



## **CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2023 - Thèse n° 115

# **BACTERIOLOGIE ET ANTIBIOGRAMMES EN CABINET VETERINAIRE : MISE EN PLACE DANS LE CADRE DE MAMMITES BOVINES ET INTERET A TRAVERS L'EXEMPLE DE LA CLINIQUE DE SAINT SYMPHORIEN SUR COISE**

## **THESE**

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1  
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 23 novembre 2023  
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

*BOREL Anne*







## **CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2023 - Thèse n° 115

# **BACTERIOLOGIE ET ANTIBIOGRAMMES EN CABINET VETERINAIRE : MISE EN PLACE DANS LE CADRE DE MAMMITES BOVINES ET INTERET A TRAVERS L'EXEMPLE DE LA CLINIQUE DE SAINT SYMPHORIEN SUR COISE**

## **THESE**

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1  
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 23 novembre 2023  
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

*BOREL Anne*





## Liste des enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (20-03-2023)

Pr	ABITBOL	Marie	Professeur
Dr	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Pr	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Dr	AYRAL	Florence	Maître de conférences
Pr	BECKER	Claire	Professeur
Dr	BELLUCO	Sara	Maître de conférences
Dr	BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences
Pr	BENOIT	Etienne	Professeur
Pr	BERNY	Philippe	Professeur
Pr	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur
Dr	BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
Dr	BRUTO	Maxime	Maître de conférences
Dr	BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
Pr	BUFF	Samuel	Professeur
Pr	BURONFOSSE	Thierry	Professeur
Dr	CACHON	Thibaut	Maître de conférences
Pr	CADORÉ	Jean-Luc	Professeur
Pr	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
Pr	CHABANNE	Luc	Professeur
Pr	CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
Dr	CHANOIT	Gillaume	Professeur
Dr	CHETOT	Thomas	Maître de conférences
Pr	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Professeur
Pr	DELAGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Pr	DJELOUADJI	Zorée	Professeur
Dr	ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
Dr	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences
Dr	GALIA	Wessam	Maître de conférences
Pr	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
Dr	GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Dr	GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Dr	HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
Dr	JOSSON-SCHRAMME	Anne	Chargé d'enseignement contractuel
Pr	JUNOT	Stéphane	Professeur
Pr	KODJO	Angeli	Professeur
Dr	KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Dr	LAABERKI	Maria-Halima	Maître de conférences
Dr	LAMBERT	Véronique	Maître de conférences
Pr	LE GRAND	Dominique	Professeur
Pr	LEBLOND	Agnès	Professeur
Dr	LEDOUX	Dorothée	Maître de conférences
Dr	LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
Dr	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences
Dr	LEGROS	Vincent	Maître de conférences
Pr	LEPAGE	Olivier	Professeur
Pr	LOUZIER	Vanessa	Professeur
Dr	LURIER	Thibaut	Maître de conférences
Dr	MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences
Pr	MARCHAL	Thierry	Professeur
Dr	MOSCA	Marion	Maître de conférences
Pr	MOUNIER	Luc	Professeur
Dr	PEROZ	Carole	Maître de conférences
Pr	PIN	Didier	Professeur
Pr	PONCE	Frédérique	Professeur
Pr	PORTIER	Karine	Professeur
Pr	POUZOT-NEVORET	Céline	Professeur
Pr	PROUILLAC	Caroline	Professeur
Pr	REMY	Denise	Professeur
Dr	RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
Pr	ROGER	Thierry	Professeur
Dr	SAWAYA	Serge	Maître de conférences
Pr	SCHRAMME	Michael	Professeur
Pr	SERGENTET	Delphine	Professeur
Dr	TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
Dr	VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
Dr	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Chargé d'enseignement contractuel
Pr	ZENNER	Lionel	Professeur



## REMERCIEMENTS

**À Monsieur le Professeur Jean-Luc CADORE**

De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse,

Hommages respectueux.

**À Madame la Professeure Caroline PROUILLAC**

De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,

Pour avoir accepté de m'accompagner dans la réalisation de cette thèse. Pour votre gentillesse, vos conseils, votre implication, toute ma gratitude.

**À Monsieur le Docteur Maxime BRUTO**

De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,

Pour votre intérêt pour ce travail, et pour participer à son jugement en tant que second assesseur, sincères remerciements.





## Table des matières

TABLE DES ANNEXES.....	13
TABLE DES FIGURES.....	15
TABLES DES TABLEAUX .....	17
LISTE DES ABREVIATIONS.....	19
INTRODUCTION .....	21
PREMIERE PARTIE : Les mammites.....	23
I. Généralités .....	23
A. Classification des mammites .....	23
1. Les mammites cliniques .....	23
a) Les mammites suraiguës .....	23
b) Les mammites aiguës .....	24
c) Les mammites chroniques.....	24
d) Bilan sur les mammites cliniques .....	25
2. Les mammites subcliniques.....	25
B. Les agents pathogènes responsables de mammites bovines .....	26
1. Pathogènes majeurs .....	26
2. Pathogènes mineurs.....	27
3. Caractéristiques des principales bactéries responsables de mammites.....	27
C. Les modèles épidémiologiques des mammites.....	29
1. Modèle contagieux dit « de traite » .....	29
2. Modèle environnemental.....	30
3. Modèle d'association .....	30
II. Le diagnostic des mammites .....	31
A. Recueil des informations et examen à distance.....	31
1. Anamnèse et commémoratifs (13).....	31
2. L'examen à distance (13).....	32
B. Examen rapproché .....	32
1. De la mamelle (13) .....	32
2. Des sécrétions mammaires (13).....	33
C. Les examens complémentaires réalisables .....	33
1. Papier indicateur (13).....	33
2. Le California Mastitis Test (13).....	35
3. La conductivité électrique du lait (13).....	36
4. Les concentrations en cellules somatiques dans le lait (13) .....	36
D. Le diagnostic étiologique.....	37

1.	L'identification de l'agent pathogène .....	37
2.	L'antibiogramme .....	37
III.	Le traitement des mammites .....	38
A.	Les différents traitements disponibles.....	38
1.	Les antibiotiques .....	38
a)	Pharmacologie.....	38
b)	Voie générale.....	39
c)	Voie intra mammaire.....	40
2.	Traitements symptomatiques et de soutien .....	43
a)	La fluidothérapie .....	43
b)	Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou glucocorticoïdes .....	43
c)	Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	44
3.	Les alternatives aux antibiotiques.....	44
B.	Traitement des mammites cliniques .....	46
1.	Arbre décisionnel du traitement des mammites cliniques (31).....	46
2.	Choix du traitement pour une mammite aiguë.....	47
3.	Choix du traitement pour une mammite suraiguë.....	48
C.	Traitement des mammites subcliniques et chroniques .....	49
IV.	L'antibiorésistance dans le cadre des mammites .....	51
A.	Définitions .....	51
B.	L'importance de la maîtrise de l'antibiorésistance en médecine de rente.....	51
1.	Le concept One Health .....	51
2.	Les plans Ecoantibio .....	53
3.	Le RESAPATH .....	54
C.	Antibiorésistance et traitement contre les mammites bovines.....	55
1.	L'émergence de résistances bactériennes liées aux traitements des mammites.....	55
2.	Conséquences de ces traitements et propagation des résistances acquises.....	57
	DEUXIEME PARTIE : Réalisation en cabinet des examens bactériologiques.....	59
I.	Les prérequis : .....	59
A.	Généralités .....	59
B.	Valeur ajoutée pour l'éleveur des analyses bactériologiques faites par le vétérinaire .....	60
1.	Le coût d'une mammite .....	60
2.	La prescription d'un traitement adapté.....	60
a)	Prescrire le bon antibiotique seulement s'il est nécessaire .....	60
b)	La prescription des antibiotiques critiques .....	61
3.	Avantages de la réalisation des analyses à la clinique .....	62

a)	Un délai d'attente moindre .....	62
b)	Inclure les analyses de lait dans une notion de service .....	63
C.	Les limites de ces analyses .....	63
1.	Des frais supplémentaires .....	63
2.	Une formation indispensable des éleveurs et des vétérinaires .....	64
3.	Interprétation des résultats .....	65
a)	L'obtention de résultats exploitables.....	65
b)	La validité et l'interprétation de ces résultats.....	65
II.	La mise en place des analyses : comment faire en pratique.....	67
A.	L'échantillon de lait .....	67
1.	Le matériel nécessaire (d'après (76)) .....	67
2.	La réalisation du prélèvement (d'après (76)).....	67
3.	La conservation du prélèvement (d'après (77)).....	68
B.	Identifier l'espèce pathogène responsable de la mammite.....	69
1.	La méthode de référence : utilisation de milieux sélectifs (78) .....	69
a)	Principe.....	69
b)	Matériel et coût.....	69
c)	La réalisation de l'analyse .....	70
d)	Bilan sur la méthode.....	75
2.	Les géloses pluri compartimentées.....	76
a)	Principe.....	76
b)	Exemple des géloses triplates type Vetorapid® .....	76
c)	Exemple des géloses chromogéniques type CPS/CNA de Biomérieux (d'après (83)) .....	77
d)	Bilan .....	78
3.	Les tests rapides .....	79
a)	Petrifilm® .....	79
a)	Mastadecide® .....	81
b)	Vetscan Mastigram+® (d'après (86)) .....	81
4.	Les automates .....	83
a)	L'utilisation du Mastatest® de Vetoquinol .....	83
b)	Utilisation de la PCR multiplex .....	85
5.	Bilan : tableau récapitulatif des différents tests existants .....	88
C.	Déterminer la sensibilité de la bactérie identifiée aux antibiotiques .....	89
1.	La norme AFNOR .....	89
2.	La méthode de référence : la méthode des disques dite de Kirby-Bauer (93), (94) .....	89
a)	Principe.....	89

b)	Matériel et coût.....	90
c)	La réalisation de l'antibiogramme et sa lecture.....	90
d)	Bilan sur la méthode.....	93
3.	Les antibiogrammes sous forme de kit : le Speed® Mam Color.....	94
4.	Les anneaux antibiotiques® DECHRA.....	95
a)	Principe.....	95
b)	Matériel et coût.....	96
c)	La réalisation de l'antibiogramme en utilisant les Rings® (98).....	96
d)	Avantages et inconvénients de la méthode.....	98
5.	Mastatest® de Vetoquinol.....	98
a)	Rappels.....	98
b)	Intérêts et inconvénients.....	99
6.	La méthode E-test.....	100
7.	Bilan : Tableau récapitulatif des différents tests existants.....	102
III.	Bilan : quand est-il intéressant de réaliser des analyses de lait ?.....	103
A.	Déterminer la nature de l'agent pathogène.....	103
B.	Intérêt de déterminer la sensibilité de la bactérie identifiée aux antibiotiques.....	103
TROISIEME PARTIE : Bactériologies et antibiogrammes à la clinique de Saint Symphorien sur Coise entre 2018 et 2022 : réalisations, intérêt en pratique et bilan sur les résistances aux antibiotiques 105		
I.	Introduction.....	105
II.	Matériel et méthodes.....	105
A.	Choix des analyses retenues pour l'étude.....	105
1.	Origine des données.....	105
2.	Réalisation des analyses au cabinet.....	106
a)	Prélèvements.....	106
b)	Bactériologies.....	106
c)	Antibiogrammes.....	107
C.	Traitement des données.....	109
1.	Classement des données.....	109
2.	Analyses des données.....	110
III.	Résultats de l'étude.....	112
A.	Présentation des résultats des analyses sur la clientèle étudiée.....	112
1.	Présentation des résultats des bactériologies réalisées entre 2018 et 2022 au cabinet....	112
2.	Etude des fréquences des sensibilités selon la bactérie sur la clientèle.....	113
a)	Les bactéries Gram négatif.....	113
b)	Les bactéries Gram positif.....	115

3. Evolution des résistances sur la période d'étude : exemple des staphylocoques à coagulase négative .....	119
B. Comparaison des résultats de l'étude avec ceux du RESAPATH .....	121
1. Proportions des pathogènes .....	121
2. Proportions des résistances .....	123
IV. Discussion .....	127
A. Témoignages des vétérinaires sur la réalisation des analyses en clinique .....	127
B. Résultats .....	127
C. Avantages de l'étude .....	130
D. Limites de l'étude .....	131
CONCLUSION.....	131
BIBLIOGRAPHIE.....	133
ANNEXES.....	141



# TABLE DES ANNEXES

<b>Annexe 1</b> : fiche explicative sur le prélèvement aseptique de lait .....	141
<b>Annexe 2</b> : Utilisation et résultats du test du khi2 ou du test de Fischer pour comparer la sensibilité aux antibiotiques des différentes bactéries.....	143





# TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Classification de la sévérité des mammites en fonction des signes cliniques.....	25
Figure 2 : utilisation du bol à fond noir pour l'observation des premiers jets.....	33
Figure 3 : réalisation et lecture du test au papier indicateur.....	34
Figure 4 : réalisation d'un CMT.....	35
Figure 5 : le choix du traitement en fonction des caractéristiques de la mammite .....	46
Figure 6 : arbre de décision pour le traitement des mammites aiguës en fonction de leur sévérité...	47
Figure 7 : traitement d'une mammite sévère en fonction de ses caractéristiques .....	49
Figure 8 : mise en place d'une thérapie adaptée en cas de mammite chronique .....	50
Figure 9 : schéma des voies de transmission de résistances aux antibiotiques entre l'homme, l'animal et l'environnement.....	52
Figure 10 : Les trois types de géloses nécessaire à la réalisation de l'analyse .....	69
Figure 11 : oses à usage unique .....	69
Figure 12 : ensemencement en trois directions.....	70
Figure 13 : test à la catalase .....	71
Figure 14 : test à la coagulase .....	71
Figure 15 : observation de l'hémolyse de S.aureus .....	72
Figure 16 : observation respective de Corynebacterium et de Staphylococcus au microscope à l'huile à immersion .....	72
Figure 17 : ensemencement de la gélose à esculine et test positif .....	73
Figure 18 : agglutination au test de Lancefield .....	73
Figure 19 : Trueperella pyogenes observée au microscope en coloration de Gram .....	74
Figure 20 : : Récapitulatif de la démarche à suivre pour l'identification du pathogène responsable de la mammite étudiée .....	75
Figure 21 : présentation des kits de gélose VetoRapid® .....	76
Figure 22 : gélose ChromID® CPS® Elite .....	77
Figure 23 : détermination de l'espèce bactérienne .....	78
Figure 24 : kit Mastdecide® .....	81
Figure 25 : réalisation du test Vetscan Mastigram® .....	82
Figure 26 : étapes de la réalisation d'une analyse de lait avec l'automate Mastatest® .....	84
Figure 27 : réalisation de la PCR multiplex PathoProof®.....	87
Figure 28 : ensemencement d'une gélose en trois dimensions.....	91
Figure 29 : exemple sur trois cas de mesure de diamètre d'inhibition et de détermination du statut de la bactérie .....	93
Figure 30 : kit Speed® Mam Color .....	94
Figure 31 : Etapes de la réalisation et de la lecture d'un antibiogramme réalisé à l'aide des Rings® DECHRA .....	97
Figure 32 : Lecture du E-test .....	100
Figure 33 : arbre de décision pour la réalisation de l'examen bactériologique .....	103
Figure 34 : arbre de décision pour la détermination de la sensibilité de la bactérie en fonction de sa nature .....	104
Figure 35: répartition des analyses en fonction du résultat .....	112
Figure 36 : évolution de la sensibilité des Staphylocoques à coagulase négative pour les antibiotiques testés entre 2018 et 2022 à Saint Symphorien sur Coise.....	120

Figure 37 : Prévalence des différents pathogènes identifiés à Saint Symphorien sur Coise et par le Resapath, entre 2018 et 2021 ..... 122

# TABLE DES TABLEAUX

Tableau I : principales bactéries responsables de mammites en France .....	28
Tableau II : Modèle épidémiologique en fonction des caractéristiques de l'élevage .....	29
Tableau III : Caractérisation épidémiologique des sous-modèles contagieux .....	29
Tableau IV : Caractérisation épidémiologique des sous-modèles environnementaux .....	30
Tableau V : bilan des caractéristiques épidémiologiques des modèles de traite et d'environnement	31
Tableau VI : étiologie possible de la mammite bovine en fonction du stade de lactation de la vache considérée .....	31
Tableau VII : caractéristiques des sécrétions lactées pour un individu sain et en cas de mammite ....	33
Tableau VIII : Interprétation du CMT d'après la notice du Leucocytest® .....	35
Tableau IX : Les principaux agents pathogènes responsables de mammite et leur répartition dans les différents compartiments pharmacologiques .....	39
Tableau X : présentation des principaux antibiotiques utilisables par voie parentérale pour le traitement des mammites bovines, et leurs caractéristiques.....	40
Tableau XI : présentation des principaux antibiotiques utilisables par voie intra mammaire pour le traitement des mammites bovines, et leurs caractéristiques .....	42
Tableau XII : présentation des principales associations antibiotiques et anti inflammatoires utilisables par voie intra mammaire pour le traitement des mammites bovines, et leurs caractéristiques .....	43
Tableau XIII : Résultats des CMI en bouillon Mueller-Hinton et dans le lait .....	66
Tableau XIV : bactérie identifiée à l'aide du test de Lancefield .....	73
Tableau XV : identification de la bactérie en fonction de la couleur de la gélose Kligler et des colonies sur les géloses CPSO et Hektoen .....	75
Tableau XVI : lecture de la gélose VetoRapid® .....	77
Tableau XVII : Les différentes plaques Petrifilm® utilisables.....	80
Tableau XVIII : Bactéries détectées par le Vetscan Mastigram® .....	82
Tableau XIX : les différents tests pour l'identification du genre bactérien, et leurs caractéristiques ..	88
Tableau XX : détermination du statut de la bactérie en fonction du diamètre d'inhibition mesurée et des valeurs (d et D) données par le référentiel.....	92
Tableau XXI : antibiotiques testés par le Speed Mam Color .....	94
Tableau XXII : les différents tests utilisables pour apprécier la sensibilité bactérienne et leurs caractéristiques .....	102
Tableau XXIII : les disques antibiotiques utilisés en fonction de la famille de la bactérie isolée.....	109
Tableau XXIV : Récapitulatifs des informations récoltées et collectées dans des tableaux Excel .....	110
Tableau XXV : prévalence des pathogènes détectés à l'aide des analyses réalisées à Saint Symphorien sur Coise de 2018 à 2022 .....	113
Tableau XXVI : Profils de sensibilité des bactéries Gram négatif selon les résultats des antibiogrammes réalisés au sein de la clinique, de 2018 à 2022 .....	114
Tableau XXVII : Profils de sensibilité des bactéries Gram positif selon les résultats des antibiogrammes réalisés au sein de la clinique, de 2018 à 2022 .....	117
Tableau XXVIII : comparaison des fréquences des sensibilités rencontrées au sein de nos deux populations d'études entre 2018 et 2021 .....	124



# LISTE DES ABREVIATIONS

ADN = Acide Désoxyribonucléique

AFNOR = Association Française de Normalisation

AINS = Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien

AIS = Anti-Inflammatoire Stéroïdien

AMM = Autorisation de Mise sur le Marché

ANSES = Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail

ARN = Acide Ribonucléique

CA-FSM = Comité de l'Antibiogramme - Société Française de Microbiologie

CCSI = Comptage des Cellules Somatiques Individuelles

CCST = Comptage des Cellules Somatiques du Tank

CMI = Concentration Minimale Inhibitrice

CMT = California Mastitis Test

CO<sub>2</sub> = Dioxyde de Carbone

EUCAST = European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

IV = Intra-veineuse

MRSA = Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus

OMS = Organisation Mondiale de la Santé

PCR = Polymerase Chain Reaction

pH = Potentiel Hydrogène

PLP = Protéine de Liaison aux Pénicillines

RESAPATH = Réseau de Surveillance de l'Antibiorésistance des Bactéries Pathogènes Animales

SNGTV = Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires

TMPS = Triméthoprime/Sulfamide



# INTRODUCTION

Les mammites constituent la première pathologie en élevage laitier. En effet on considère que 40% des vaches laitières en production sont touchées par une mammite clinique. En plus d'avoir un effet non négligeable sur la santé et le bien-être des vaches, cette pathologie est extrêmement coûteuse pour l'éleveur, entre le cout des traitements et la baisse de production laitière notamment (1).

Le traitement des mammites repose basiquement sur l'antibiothérapie, avec l'utilisation de spécialités intramammaires parfois complétées par un traitement par voie générale. Le vétérinaire est rarement consulté en l'absence d'atteinte générale de l'animal, et le traitement mis en place est le plus souvent probabiliste. Or, en cas d'échec de l'antibiothérapie de première intention, les chances de guérison bactériologique diminuent, d'où l'intérêt d'adapter au mieux le traitement dès la prise en charge.

Concernant la gestion des mammites bovines, ces dernières années ont vu l'essor de la réalisation d'analyses bactériologiques et d'antibiogrammes en cabinet vétérinaire. Le développement de ces outils d'aide au diagnostic s'inscrit dans un contexte d'utilisation raisonnée des antibiotiques, comme demandés par les plans EcoAntibios (2). Ils s'inscrivent aussi dans un contexte de changements sociétaux avec une prise de conscience de la population sur l'utilisation des médicaments en élevage. Le monde agricole est ainsi confronté à une demande accrue de denrées alimentaires provenant d'animaux ayant reçu peu de traitements, et à des produits d'origine biologique. De plus, cela répond à une demande croissante de la mise en place de suivi et d'offres de service en clientèle vétérinaire rurale, ainsi que le développement d'examens complémentaires en cabinet. Les laboratoires et entreprises spécialisées dans la médecine vétérinaire, tels que Zoetis<sup>®</sup>, Dechra<sup>®</sup> ou encore Vetoquinol<sup>®</sup>, s'efforcent également à rendre ces analyses plus abordables en développant des outils permettant de simplifier la réalisation ainsi que l'interprétation d'analyses anciennement réservées aux laboratoires spécialisés.

Nous aborderons dans une première partie bibliographique le diagnostic et le traitement des mammites bovines, ainsi que l'importance de l'antibiorésistance dans la gestion de ces mammites. Dans un deuxième temps, nous parlerons de la réalisation d'analyses

bactériologiques et d'antibiogrammes en cabinet vétérinaire, en présentant les différentes alternatives disponibles pour le praticien et nous discuterons de l'intérêt de la réalisation de ces analyses. Enfin, nous verrons à travers l'exemple de la clinique C3G de Saint Symphorien sur Coise dans la Loire (42) la mise en place de ces analyses depuis 2018 et ce qu'ils en retirent dans leur pratique.



# PREMIERE PARTIE : Les mammites

## I. Généralités

Une mammite se définit par une inflammation de la glande mammaire (3). Chez la vache, elle est le plus souvent d'origine infectieuse mais peut parfois avoir une origine toxique ou traumatique. Il est possible de classer les mammites en fonction de leur épidémiologie : on parle de modèle d'environnement (opportuniste), de modèle contagieux (de traite) et de modèle d'association. Les mammites peuvent aussi être classées en clinique et subclinique en fonction des symptômes inflammatoires associés (4).

### A. Classification des mammites

#### 1. Les mammites cliniques

Les mammites cliniques sont caractérisées par l'apparition de sécrétions lactées modifiées : on peut observer une modification de la couleur du lait, une consistance aqueuse, des flocons, des amas de fibrine ou bien encore des caillots sanguins. Ces modifications du lait sont souvent associées à des signes d'inflammation de la mamelle tels qu'une tuméfaction du quartier, un œdème et de la douleur. Dans les cas les plus sévères, une atteinte de l'état général de l'animal est observée (3).

##### a) *Les mammites suraiguës*

Une mammite suraiguë se caractérise par une atteinte de l'état général de la vache en complément des symptômes locaux d'inflammation de la mamelle ainsi que de modifications du lait. Les signes systémiques d'apparition brutale observés sont notamment une dépression, un pouls rapide, de la diarrhée et de la déshydratation. Les mammites suraiguës correspondent à cinq à dix pour cent des mammites cliniques et ont un pronostic réservé. On distingue deux types de mammites suraiguës :

- Les mammites **de type « colibacillaire »**, qui sont les plus rencontrées dans la période immédiate *post-partum*. Elles sont le plus souvent dues à *Escherichia coli* qui libère des

endotoxines à l'origine d'un choc endotoxique. On retrouve une vache en état de choc, souvent en hypothermie et abattue, dans l'incapacité de se relever. La sécrétion lactée est particulièrement modifiée, avec un lait séreux, jaune pâle ou blanc rosé, présentant des grumeaux.

- Les mammites **gangréneuses** sont moins fréquentes. Les germes mis en cause sont *Staphylococcus aureus* et des germes anaérobies tels que *Clostridium spp.* L'inflammation du quartier est très importante et l'absence de traitement conduit à la mort de la vache. La mamelle et le quartier atteints deviennent rapidement froids, bleutés puis noirâtres. La production lactée est fortement diminuée et le lait présente une odeur nauséabonde.

#### b) *Les mammites aiguës*

Une mammite aiguë se définit par une inflammation plus ou moins marquée de la glande mammaire d'apparition soudaine. Les quartiers atteints présentent de l'œdème, un durcissement, ils sont rouges et douloureux. Le lait a un aspect modifié, et la production laitière est diminuée. Une absence de traitement de ces mammites peut aboutir à de la chronicité.

#### c) *Les mammites chroniques*

Les mammites chroniques surviennent à la suite de mammites aiguës sans guérison bactériologique, et sont définies par un comptage cellulaire somatique individuel élevé sur une période supérieure à trois semaines. Elles se caractérisent par une absence de signes généraux, la présence de grumeaux dans le lait et des signes locaux tardifs et discrets évoluant vers une fibrose du parenchyme pulmonaire. Ces mammites entraînent irrémédiablement le tarissement du quartier atteint. Les mammites chroniques ne sont pas sans importance dans un élevage car elles peuvent affecter considérablement le nombre de transmission des infections de la mamelle ainsi que des pertes de production de lait.

#### d) Bilan sur les mammites cliniques

Les mammites cliniques peuvent donc se classer en différentes catégories en fonction de leurs signes cliniques (5).

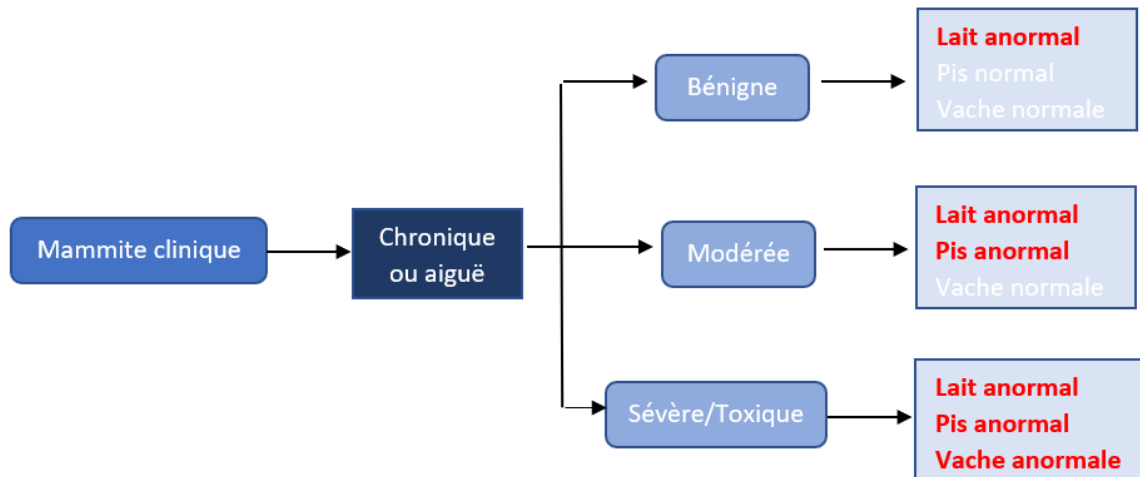


Figure 1 : Classification de la sévérité des mammites en fonction des signes cliniques (d'après (3))

#### 2. Les mammites subcliniques

Les mammites subcliniques sont caractérisées par une mobilisation de cellules inflammatoires dans la mamelle et une absence de modifications visibles du lait ou de la mamelle. Elles sont associées à une baisse de la production de lait ainsi qu'une augmentation du CCS. On considère qu'une vache est atteinte de mammite subclinique sur un ou plusieurs quartiers si le CCS est supérieur à 200 000 cellules/mL (6). Les mammites subcliniques sont 15 à 40 fois plus courantes et entraînent une perte de lait trois fois plus importante que les mammites cliniques. Leur détection repose essentiellement sur l'analyse des CCSI fournie par la laiterie ou le Contrôle Laitier. Les pathogènes les plus couramment rencontrés lors de mammites subcliniques sont des coliformes, des streptocoques, des staphylocoques et *Actinomyces pyogenes*.

## B. Les agents pathogènes responsables de mammites bovines

Les mammites infectieuses bovines sont dues dans la majorité des cas à des bactéries. Généralement, une seule espèce bactérienne est responsable de l'infection, mais dans certains cas on peut retrouver deux espèces

De manière anecdotique, on peut rencontrer des mammites mycosiques imputables à *Candida* (*C. krusei*, *C. albicans*, *C. rugosa*), *Trichosporon spp* et *Cryptococcus* (*C. neoformans*, *C. lactavirius*) ou des mammites liées à des algues *Prothoteca* (7).

La contamination de la mamelle se fait de manière exogène sauf dans de rares cas d'infection par des mycoplasmes, où elle se fait de manière endogène, par voie hématogène à partir d'un autre site infecté (8).

### 1. Pathogènes majeurs

On parle de pathogène majeur lorsqu'on se trouve face à des bactéries virulentes qui peuvent causer des réactions sévères pouvant aller jusqu'à la mort de la vache. Le CCS augmente fortement et est couplé à une baisse de production laitière (9). Pour les pathogènes les plus couramment isolés, on peut citer notamment :

- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus uberis*
- *Streptococcus dysgalactiae*
- *Escherichia coli*
- *Klebsiella spp*
- *Streptococcus spp*
- *Mycoplasma spp*

## 2. Pathogènes mineurs

On parle de pathogène mineur lorsqu'on se trouve face à des bactéries responsables principalement de mammites subcliniques associées à une légère hausse du CCS. Ces pathogènes peuvent être responsables d'une baisse de production laitière mais qui reste faible. On peut citer notamment (10) :

- *Corynebacterium spp*
- Les staphylocoques à coagulase négative

## 3. Caractéristiques des principales bactéries responsables de mammites

Le Tableau I présente les principales caractéristiques des bactéries les plus couramment rencontrées lors de mammites bovines en France (7) (11).

Bactérie	Coloration de Gram	Pathogène majeur ou mineur	Prévalence en France (RESAPATH 2019)	Modèle épidémiologique	Source de l'infection	Type d'infection
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	Majeur	10%	Contagieux	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peau du pis</li> <li>- Muqueuse des bovins</li> <li>- Quartier infecté</li> </ul>	Principalement subclinique
Staphylocoques à coagulase négative		Mineur	12%	Contagieux	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peau des trayons et du pis</li> </ul>	Subclinique
<i>Streptococcus uberis</i>		Majeur	31%	Mixte	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peau</li> <li>- Muqueuses buccale et vaginale</li> <li>- Litière de paille</li> </ul>	Clinique
<i>Streptococcus agalactiae</i>		Majeur		Environnemental	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peau du pis</li> <li>- Quartier infecté</li> <li>- Trayons craqués/gercés</li> </ul>	Principalement subclinique
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>		Majeur		Environnemental	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peau des trayons</li> <li>- Amygdales</li> <li>- Quartier et pis infectés</li> <li>- Environnement de la vache</li> </ul>	Subclinique
<i>Corynebacterium bovis</i>		Mineur	1,2%	Contagieux	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pis et canaux des trayons infectés</li> </ul>	Parfois subclinique
<i>Trueperella pyogenes</i>				1,3%	Environnemental	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vecteurs (mouches)</li> <li>- Matériel contaminé</li> <li>- Peau et muqueuses</li> </ul>
<i>Escherichia coli</i>	Gram -	Majeur	28%	Environnemental	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Litière souillée</li> <li>- Fumier</li> <li>- Sol</li> <li>- Eaux stagnantes</li> </ul>	Clinique suraiguë
<i>Klebsiella spp</i>		Majeur	3,2%	Environnemental	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sol</li> <li>- Litière organique</li> </ul>	Clinique aigue et sévère
<i>Pseudomonas spp</i>				1,3%	Environnemental	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Etangs</li> <li>- Endroits et matériel humides et sales</li> <li>- Litières humides</li> </ul>

Tableau I : principales bactéries responsables de mammites en France

### C. Les modèles épidémiologiques des mammites

On distingue deux principaux modèles de transmission des germes responsables de mammites, le modèle environnemental et le modèle de traite. Le Tableau II permet de déterminer le modèle prédominant dans un élevage (7).

Bilan des infections globales du troupeau		Pourcentage de mammites cliniques par an	
		< 25%	>25%
Moyenne du CCS du tank	< 200 000	Idéal	Modèle environnemental
	>200 000	Modèle de traite	Modèle d'association

Tableau II : Modèle épidémiologique en fonction des caractéristiques de l'élevage

La connaissance du modèle de transmission prédominant dans un élevage permet d'adapter les mesures préventives et curatives à mettre en place.

#### 1. Modèle contagieux dit « de traite »

Les principales bactéries concernées par ce modèle sont *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, les staphylocoques à coagulase négative et les mycoplasmes. Elles sont généralement responsables de mammites subcliniques. On peut distinguer deux sous-modèles : un à staphylocoque et l'autre à streptocoques. Leurs caractéristiques respectives sont présentées dans le Tableau III (12).

Critères	Sous-modèle à streptocoques dominants	Sous-modèle à staphylocoques dominants
<b>Séries de CCSI &gt; 300</b>	3 à 4 mois	Supérieures à 4 mois
<b>CCSI avant mammite clinique</b>	En augmentation	Elevés en moyenne
<b>Indice de guérison au tarissement</b>	Modéré à élevé	Faible à modérée
<b>Sévérité de la mammite clinique</b>	Modérée en moyenne	Faible à modérée
<b>Rechutes</b>	Peu à assez fréquentes	Fréquentes
<b>Quartiers indurés, fibrosés</b>	Rares	Assez fréquentes
<b>Facteurs de risque</b>	Logement défectueux Perte de lait sur la litière	Réformes insuffisantes Trayons crevassés

Tableau III : Caractérisation épidémiologique des sous-modèles contagieux

On parle de modèle contagieux car ce sont des bactéries commensales de la peau des trayons et du pis, qui se multiplient dans un premier temps aux extrémités des trayons puis infectent le quartier. La transmission a lieu d'une vache à une autre durant la traite, et est souvent associée à un vecteur contaminé comme les lavettes, les manchons de traite ou encore les mains de l'éleveur.

## 2. Modèle environnemental

Les principales bactéries concernées par ce modèle sont *Escherichia coli*, *Klebsiella spp* et les streptocoques tels que *Streptococcus uberis* et *Streptococcus dysgalactiae*. Ce sont des bactéries opportunistes qui profitent d'un système immunitaire affaibli ou d'une situation favorisant une contamination environnementale telle qu'une canule sale lors d'une injection intramammaire ou une mauvaise désinfection des trayons. Elles sont généralement responsables de mammites cliniques. On peut distinguer deux sous-modèles : un à entérobactéries et l'autre à streptocoques. Leurs caractéristiques respectives sont présentées dans le Tableau IV (12).

Critères	Sous-modèle à streptocoques dominants	Sous-modèle à entérobactéries
<b>Séries de CCSI &gt; 300</b>	2 à 3 mois	1 à 2 mois
<b>CCSI avant mammite clinique</b>	En augmentation	Faibles
<b>CCSI après mammite clinique</b>	Elevés	Faibles
<b>Sévérité de la mammite clinique</b>	Modérée en moyenne	Modérée à forte
<b>Rechutes</b>	Peu à assez fréquentes	Rares
<b>Facteurs de risque</b>	Hygiène des bâtiments, perte de lait sur la litière	Défaut d'hygiène autour du vêlage

Tableau IV : Caractérisation épidémiologique des sous-modèles environnementaux

On parle de modèle environnemental car ces bactéries se développent dans l'environnement : l'eau, le sol, le fumier, la litière, les plantes. La contamination a lieu entre les traites par contact direct entre les trayons et l'environnement contaminé. Le reflux de lait qu'engendre la traite permet aux bactéries d'infecter le quartier, on parle de contamination par propulsion.

## 3. Modèle d'association

En élevage, on retrouve rarement un modèle clairement défini. En effet, l'éleveur, en essayant de contrôler les mammites, peut modifier leurs caractéristiques épidémiologiques. On se retrouve alors avec une coexistence des deux modèles, dont l'un peut prédominer par rapport à l'autre en fonction des mesures mises en place par l'éleveur (12).



Critères	Modèle de traite	Modèle environnemental
Comptages cellulaires	CCST > 200 000 Moins de 85% CCSI < 300 000	CCST > 200 000 Moins de 85% CCSI < 300 000
Incidence cas clinique	Faible à modérée (< 30% des vaches par an)	Modérée à élevée (> 30% des vaches par an)
Sévérité cas clinique	Plus faible	Plus forte
Facteurs de risque	Traite favorisant la contagion Trayons crevassés Défaut de trempage du trayon Tarisement mal conduit Réformes insuffisantes	Stabulation longue Logement défectueux Aire de couchage contaminée Défaut lavage/essuyage des trayons Défaut d'hygiène du traitement

Tableau V : bilan des caractéristiques épidémiologiques des modèles de traite et d'environnement

## II. Le diagnostic des mammites

### A. Recueil des informations et examen à distance

#### 1. Anamnèse et commémoratifs (13)

Souvent, le vétérinaire est appelé pour une mammite lorsqu'elle ne répond pas au premier traitement mis en place par l'éleveur ou lorsqu'elle entraîne des répercussions sur l'état clinique. L'objectif du vétérinaire est donc d'adapter le traitement. Pour cela, il doit avoir une idée précise de l'état de l'animal et si possible poser un diagnostic étiologique.

Dans ce contexte, certaines informations peuvent nous aider à affiner le diagnostic tel que : le stade de lactation de l'animal, les symptômes observés par l'éleveur et leur durée d'évolution, si un traitement a déjà été mis en place ou non, si la vache a déjà présenté ou non des mammites au cours des lactations précédentes.

Stade de lactation	Etiologie possible
<b>Au début de la lactation, après vêlage</b>	Mammite due à <i>E coli</i> ou liée à des streptocoques
<b>A la fin de la lactation</b>	Mammite plutôt liée à des staphylocoques, des germes chroniques
<b>Au tarissement</b>	Mammite pyogène

Tableau VI : étiologie possible de la mammite bovine en fonction du stade de lactation de la vache considérée

## 2. L'examen à distance (13)

L'examen à distance est rapide à effectuer et ne doit pas être négligé. Il permet de communiquer des informations sur une possible affection concomitante que n'aurait pas vue l'éleveur. Il permet aussi d'évaluer l'état général de la vache : si elle est abattue, en état de choc, si elle rumine ou non. Elle permet d'observer la mamelle à distance pour évaluer sa couleur, si elle présente des déformations mais aussi pour juger de potentiels facteurs de risque pouvant être liés à l'apparition de mammites tels qu'une mamelle sale, des trayons qui touchent le sol ou encore une queue sale assez longue pour toucher les trayons postérieurs.

### B. Examen rapproché

#### 1. De la mamelle (13)

Dans un premier temps, on réalise un examen visuel de la mamelle qui permet d'évaluer les caractéristiques physiques de la mamelle. On observe des asymétries éventuelles des quartiers (hypertrophies ou atrophies), la couleur de la peau des quartiers et des trayons à la recherche d'hématomes ou de congestions, et on termine avec un examen approfondi du trayon à la recherche d'excroissances cutanées comme des verrues, de lésions vasculaires telles que des pétéchies, des gerçures, des anneaux de compression etc ou de lésions de type hyperkératosique. Ces lésions témoignent d'effets délétères induits par la machine à traire ou la méthode de traite et sont des facteurs prédisposants à l'apparition de mammites.

Dans un deuxième temps, on palpe la mamelle de manière intégrale puis quartier par quartier. Cette palpation doit se faire préférentiellement sur une mamelle vide donc après la traite. On cherche à apprécier la qualité de la peau de la mamelle, la présence ou non de signes inflammatoires, des anomalies du parenchyme mammaire (indurations, nodules etc). On s'intéresse aussi aux nœuds lymphatiques rétro mammaires qui, lorsqu'ils présentent une adénomégalie, témoignent d'une adénite et donc d'une atteinte de la mamelle.

## 2. Des sécrétions mammaires (13)

On cherche à évaluer des modifications des sécrétions mammaires. On s'intéresse à la couleur, à l'odeur, à la consistance, à la viscosité et à l'homogénéité de ces sécrétions. Pour cela, on observe les premiers jets dans un bol à fond noir.



Figure 2 : utilisation du bol à fond noir pour l'observation des premiers jets (photographies personnelles)

Les modifications que nous pouvons rencontrer sont présentées dans le Tableau VII.

Paramètre étudié	Lait sain	Lait associé à une mammite
Couleur	Blanc, peut prendre une teinte jaunâtre durant la phase colostrale, ou rosée en cas d'hémolactation	Peut varier de jaune à rouge sombre
Odeur	Odeur agréable et caractéristique	<ul style="list-style-type: none"><li>- Odeur d'œuf pourri (germes pyogènes)</li><li>- Odeur aigre-douce (germes anaérobies)</li><li>- Odeur fruitée-acidulée (infections colibacillaires)</li></ul>
Consistance, homogénéité, viscosité	Homogène, liquide, non visqueux	Présence possible de pus ou de grumeaux

Tableau VII : caractéristiques des sécrétions lactées pour un individu sain et en cas de mammite

La quantité de lait produite est aussi corrélée à une infection mammaire. En effet, en cas de mammites aussi bien subcliniques que cliniques, on constate une diminution de la production lactée. La reprise de la lactation est un signe de guérison.

### C. Les examens complémentaires réalisables

#### 1. Papier indicateur (13)

Ce test correspond à un papier buvard avec quatre zones réactives correspondant aux quatre quartiers. Ces zones sont traitées avec des indicateurs colorés : bleu de bromothymol

et nitrazine qui entraînent un changement de couleur lors d'une variation de pH. Pour du lait sain, la zone reste jaune, et lors de mammite, la zone devient verte.

Ce test est facile et économique à réaliser. Il est intéressant à utiliser dans des troupeaux où les mammites sont nombreuses, cliniques et subcliniques. Il permet de déterminer les quartiers touchés lorsque le taux cellulaire du tank est élevé.

Cependant, ce test a une sensibilité assez faible, de 55%. Il peut entraîner des faux positifs en fonction des modifications physiologiques du lait, mais aussi des faux négatifs dans le cas de certaines infections à streptocoques.

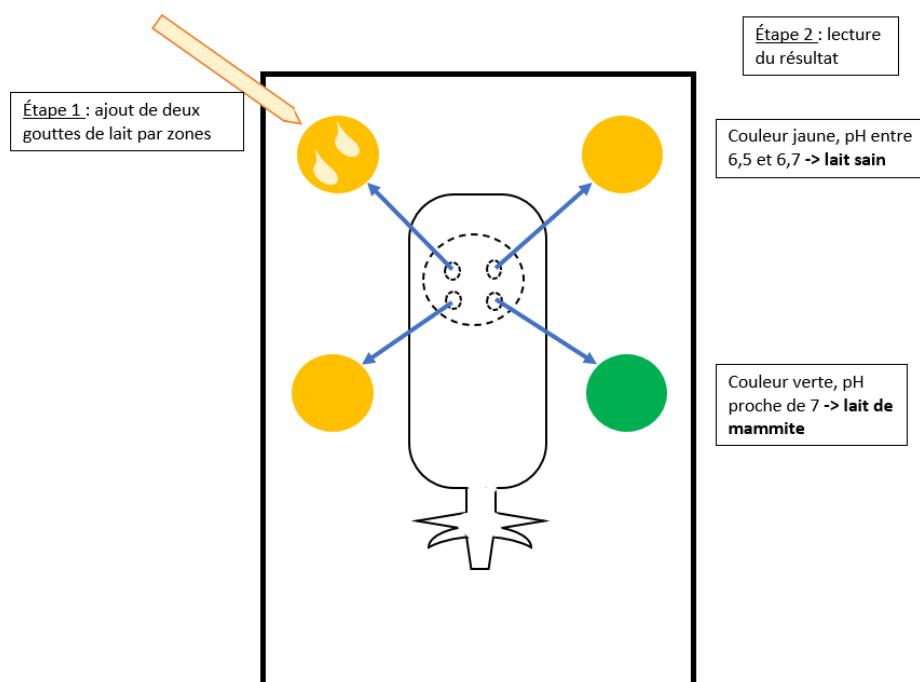


Figure 3 : réalisation et lecture du test au papier indicateur (illustration personnelle)

## 2. Le California Mastitis Test (13)

Pour réaliser ce test, on met en contact une petite quantité de lait (deux millilitres) avec deux millilitres d'une solution de Teepol à 10% (détergent) et de pourpre de Bromocrésol (colorant). Le colorant changera de couleur en cas d'un changement de pH. Le détergent provoque la lyse des cellules présentes dans le lait et la libération de l'ADN, ce qui va modifier la viscosité du lait. La lecture du résultat se fait immédiatement après avoir mélangé les deux liquides grâce à un mouvement de rotation.



Figure 4 : réalisation d'un CMT (photographie personnelle)

L'interprétation du test est décrite dans le Tableau VIII.

Lecture			Interprétation	
Aspect	Score		Infection	Relation avec la numération cellulaire moyenne (x103/mL) (SCHNEIDER et al. 1966)
	Valeur	Croix		
Consistance normale, couleur grise	0	0	Absente	100
Léger gel disparaissant après agitation, couleur gris violacé	1	+/-	Risque d'infection par pathogène mineur	300
Léger gel persistant, filament grumeleux, couleur gris violet	2	+	Mammite subclinique	900
Epaississement immédiat, amas visqueux au fond de la coupelle	3	++	Mammite subclinique	2700
Gel épais, consistance du blanc d'œuf, couleur violet foncé	4	+++	Mammite subclinique à la limite de l'expression clinique	8100

Tableau VIII : Interprétation du CMT d'après la notice du Leucocyttest®

Ce test est facile à réaliser, que ce soit par l'éleveur ou le vétérinaire. Il permet de dépister des affections subcliniques et de déterminer le ou les quartiers infectés. La sensibilité du CMT est de 76%, mais nécessite une grande propreté du plateau et des trayons.

### 3. La conductivité électrique du lait (13)

Ce test repose sur les variations de conductivité du lait lors d'infections mammaires. En effet, dans ces cas-là, les concentrations en ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  du lait augmentent, et les concentrations en lactose et  $\text{K}^+$  diminuent, ce qui créent des variations de conductivité qui peuvent aller jusqu'à 50% pour les mammites cliniques et 20% pour les mammites subcliniques. Cependant, les valeurs de conductivité varient aussi au cours de la traite, en fonction de la race, du stade physiologique de la vache ou encore de son alimentation. Il faut donc être prudent lors de l'interprétation de ces variations de conductivité (14).

Ce test permet de détecter de manière très précoce des mammites cliniques comme subcliniques, parfois avant les premiers symptômes. Il se réalise à la ferme grâce à un suivi de la conductivité du lait au cours de la traite.

### 4. Les concentrations en cellules somatiques dans le lait (13)

Les concentrations en cellules somatiques individuelles (CCSI) ou de tank (CCST) sont utilisées pour rendre compte du statut sanitaire de la vache ou du troupeau. Les analyses sont réalisées mensuellement par le contrôle laitier pour le CCSI et dans le cadre de la collecte du lait pour le CCST. La CCSI peut aussi être mesurée par un laboratoire spécialisé ou en cabinet vétérinaire si l'éleveur le souhaite. La CCS correspond au nombre de cellules somatiques (cellules épithéliales mammaires, macrophages, polynucléaires neutrophiles et lymphocytes) présentes dans le lait. En cas d'infection mammaire, ce CCS augmente. Pour la CCSI on étudie le lait de mélange des quatre quartiers de la vache. Pour la CCST, on prend un échantillon de lait de tank.

On considère que :

- Une vache infectée présente une CCSI supérieure à 800 000 cellules/mL sur au moins deux des cinq derniers contrôles.
- Une vache saine présente une CCSI inférieure à 300 000 cellules/mL
- Dans les autres cas, on considère que la vache est douteuse.

Cependant il ne faut pas oublier qu'on étudie un mélange, on peut donc ainsi diluer les cellules somatiques d'un quartier fortement positif si les trois autres présentent une

concentration en cellules somatiques faible. De même, une infection à *Staphylococcus aureus* ne sera pas toujours corrélée à une CCSI supérieure à 300 000 cellules/mL. Toutefois, après un épisode clinique et une guérison bactériologique, la CCSI peut rester élevée (14).

C'est pour ces raisons qu'il est intéressant et important de s'intéresser aux concentrations en cellules somatiques sur de longues périodes, et de favoriser l'étude ces analyses dans un contexte épidémiologique global sur l'ensemble du troupeau plutôt qu'individu par individu.

## D. Le diagnostic étiologique

### 1. L'identification de l'agent pathogène

L'identification des agents pathogènes responsables d'infections de la mamelle permet une meilleure gestion médicale ou sanitaire de ces infections, que ce soit au tarissement ou en lactation. De plus, utilisées dans un contexte de médecine des troupeaux, ces identifications permettent de dégager un modèle prédominant dans l'élevage, et ainsi d'adapter au mieux les traitements antibiotiques et les mesures préventives (15).

Ce diagnostic bactériologique nécessite un prélèvement de lait réalisé de manière stérile et conservé au frais ou congelé si l'analyse est réalisée plus de deux jours après le prélèvement (16). De nombreuses analyses sont disponibles pour établir ce diagnostic. Certaines sont réalisables par le vétérinaire, tels que des tests rapides ou des bactériologies au cabinet. La description de ces analyses sera développée dans la deuxième partie.

Si le vétérinaire ne peut pas réaliser lui-même les analyses bactériologiques, il peut confier l'échantillon de lait à un laboratoire d'analyses vétérinaires qui pourra réaliser la bactériologie ou réaliser le diagnostic par PCR. L'analyse est assez couteuse et le spectre est limité à deux à seize cibles. Cependant, cette méthode présente comme avantage par rapport aux bactériologies classiques de fournir des résultats rapides en quelques heures et de détecter des souches de bactéries dont la culture est difficile (17).

### 2. L'antibiogramme

Une fois l'agent pathogène identifié, il convient d'adapter au mieux le traitement antibiotique à administrer. Pour cela, il est possible de déterminer la sensibilité de la bactérie

isolée lors de la culture bactérienne. Cette analyse est réalisable en cabinet vétérinaire comme en laboratoire. Elle permet de classer les bactéries en trois catégories : sensible, résistant et intermédiaire (18).

La réalisation, les intérêts et les limites de cet examen seront développés dans de la deuxième partie.

### III. Le traitement des mammites

D'un point de vue financier et sanitaire, il est plus intéressant de mettre l'accent sur la prévention plutôt que sur le traitement des mammites, car cela garantit la production d'un lait de meilleure qualité à moindre coût (19). Cependant, il ne faut pas négliger l'intervention curative dans le contrôle des mammites bovines.

La thérapeutique sera alors à adapter en fonction du type de mammite rencontré : sévérité, récurrence, agent infectieux impliqué etc. Les médicaments disponibles pour le vétérinaire sont nombreux.

#### A. Les différents traitements disponibles

##### 1. Les antibiotiques

###### a) *Pharmacologie*

L'utilisation d'antibiotique dans le cadre de mammites a pour but d'obtenir une guérison bactériologique de l'animal. Pour cela, la spécialité utilisée doit être active contre le pathogène cible, permettre une concentration en antibiotique supérieure à la CMI au foyer infectieux. Dans le cadre des mammites bovines, on peut différencier deux foyers infectieux possibles (19) :

- Le premier correspond au lait qui se situe dans les canaux galactophores et les alvéoles mammaires ;
- Le deuxième correspond au tissu profond de la glande mammaire (le parenchyme mammaire) ;

Dans le cadre d'atteintes systémiques, une des complications est l'extension du foyer infectieux au secteur extramammaire.



Une grande majorité des nouvelles infections provient de contaminations ascendantes, à partir du canal du trayon. Les pathogènes se retrouvent donc dans le premier compartiment. L'infection peut ensuite progresser et atteindre le deuxième quartier avec une internalisation des agents pathogènes et l'apparition d'une perméabilité des barrières biologiques liée au processus inflammatoire. Enfin, si la rupture des barrières biologiques est très importante, le pathogène peut passer dans la circulation sanguine et entraîner une bactériémie (20).

Il est possible de résumer la localisation des principaux agents pathogènes dans les trois compartiments vus précédemment pour adapter la thérapeutique (Tableau IX) (19).

Tableau IX : Les principaux agents pathogènes responsables de mammite et leur répartition dans les différents compartiments pharmacologiques (19)

Agents pathogènes responsables de la mammite	Compartiments pharmacologiques		
	Lait et canaux galactophores	Parenchyme mammaire	Circulation systémique
<b><i>Streptococcus agalactiae</i></b>	+++	-	-
<b><i>Streptococcus sp.</i></b>	+++	+	-
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	+	+++	-
<b><i>Staphylococcus sp.</i></b>	+++	-	-
<b>Coliformes</b>	+	-	+++
<b>Mycoplasmes et autres bactéries Gram -.</b>	-	-	+++

#### b) Voie générale

Les antibiotiques peuvent être administrés par voie générale. La molécule sera alors diffusée à l'ensemble de l'individu, avec notamment une exposition des quatre quartiers de la mamelle. De plus, la totalité de la flore bactérienne de l'animal sera exposée à ces antibiotiques, ce dont il faut tenir compte pour la sélection de résistances bactériennes (20). Cette voie est intéressante lorsqu'on cible des bactéries invasives ou qui ont tendance à créer des abcès (19).

La diffusion de l'antibiotique jusqu'à la glande mammaire se fait par voie sanguine. Le passage des molécules du sang dans le lait dépend des propriétés chimiques des principes actifs, telles que la taille, la lipophilie, la forme ionisée ou non, les propriétés acide/base de la molécule. Le pH des milieux considérés joue un rôle dans la diffusion de ces molécules en modifiant la proportion de forme ionisée versus non ionisée. En cas d'inflammation très importante de la mamelle, les barrières séparant la circulation générale du lait perdent leur

intégrité et deviennent perméables ce qui entraîne un équilibre entre les concentrations d'antibiotique dans le lait et dans le plasma (20).

Le choix de l'antibiotique à utiliser doit donc se baser sur ses propriétés physico-chimiques, sur son efficacité vis-à-vis du pathogène visé et sur son AMM. Le

Tableau X présente certaines spécialités disponibles dans la pharmacopée vétérinaire utilisées dans le traitement des mammites.

Tableau X : présentation des principaux antibiotiques utilisables par voie parentérale pour le traitement des mammites bovines, et leurs caractéristiques (d'après (21))

Famille d'antibiotique	Molécules	Exemple de spécialités	Mode d'action	Spectre d'action	Temps d'attente
<b>β-Lactamines</b>	Amoxicilline + acide clavulanique	Synulox®	Bactéricide	Gram + et Gram -	6,5 jours
	Pénicilline G	Intramicine®		Gram +	7 jours
	Penethamate	<b>Stop M®</b>		<i>Streptococcus uberis</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4 jours
	Amoxycilline	Clamoxyl®		Gram + et Gram -	9 jours
	Amicilline + colistine	Colicilline® Colampi®		Gram + et Gram -	3 jours
<b>Céphalosporine</b>	Cefquinome	Cobactan 2,5%®	Bactéricide	Gram + et Gram -	24 heures
<b>Macrolides</b>	Spiramycine	<b>Spirovet®</b>	Bactériostatique	<i>Staph. aureus</i>	13,5 jours
	Tylosine	<b>Tylan®</b> <b>Pharmasin®</b>		<i>Streptococcus spp</i> , <i>staph. spp</i> , <i>Mycoplasma</i>	108 heures
<b>Fluoroquinolones</b>	Marbofloxacin	<b>Marbocyl 10%®</b>	Bactéricide	Gram – et staphylocoques	36 heures
	Enrofloxacin	<b>Baytril®</b>			3 jours
	Danofloxacin	<b>Advocine 180®</b>			4 jours
<b>Sulfamides + triméthoprime</b>	Sulfadimidine + triméthoprime	Amphoprim® Septotryl®	Bactériostatique	Gram + et Gram -	48 heures
<b>Tétracyclines</b>	Oxytétracycline	Terramycine®	Bactériostatique	Gram + et Gram -	4 jours

**Remarque : en rouge et en gras** : les spécialités qui comportent l'indication mammité. Les autres spécialités sont utilisées en pratique hors AMM.

### c) Voie intra mammaire

Les antibiotiques peuvent être administrés par voie locale, sous forme de suspension, de pommade ou de solution intra mammaire. Cette voie est à privilégier lorsque l'on cible des

bactéries qui se trouvent principalement dans le premier compartiment (19). Le principe actif atteint ce compartiment à des concentrations plus élevées et plus rapidement que lorsqu'il est administré par voie systémique. De plus, la dose administrée est moindre (20). Cependant, au fil des traites les molécules d'antibiotique sont éliminées en partie du lait, ce qui peut entraîner une diminution de sa concentration dans le lait et ainsi diminuer son efficacité (19). Cette voie n'est pas adaptée aux traitements des mammites chroniques qui sont souvent associées à un dépôt de fibrine et la formation de micro-abcès dans les voies galactophores, ce qui interfère avec la distribution des médicaments vers les alvéoles terminales. Enfin, il est indispensable d'observer une hygiène stricte lors de l'administration de ces médicaments pour éviter une infection secondaire par contamination (19).

Ces traitements intra mammaires peuvent être utilisés en lactation ou lors du tarissement. Le tableau XI présente les différentes spécialités intramammaires disponibles en France (21).

Tableau XI : présentation des principaux antibiotiques utilisables par voie intra mammaire pour le traitement des mammites bovines, et leurs caractéristiques (d'après (21))

	Famille d'antibiotiques	Molécules	Exemples de spécialités	Mode d'action	Spectre d'action
Antibiotiques en lactation	Aminoglycosides + macrolides	Néomycine + lincomycine	Albionic®	Bactéricide sur <i>staph. aureus</i> et <i>E. coli</i> Bactériostatique sur streptocoques	Gram + et Gram -
	β-Lactamines	Ampicilline + cloxacilline	Ampiclox®	Bactéricide	Gram + et Gram -
		Oxacilline	Novocillin® LC		
		Céfalexine	Rilexine®		
		Céfazoline	Cefovet®		
		Cefopérazone	Pathozone®		
		Cefquinome	Cobactan® LC Plenix LC® 75 mg Qivitan® LC 75 mg		
		Cloxacilline	Orbenin® longue action		
		Penicilline G	Ubropen®		
		Procaïne benzylpénicilline	Procapen injector®		
	β-Lactamines + aminoglycosides	Céfalexine + kanamycine	Ubrolexin®	Bactéricide	Gram + et Gram -
		Cloxacilline + gentamicine	Gentamam®		
		Pénicilline G + dihydrostreptomycine	Masti-péni®		
β-Lactamines + polypeptides	Cloxacilline + colistine	Mammitel® Masticoli®	Bactéricide	Gram + et Gram -	
Macrolides	Pirlimycine	Pirsue®	Bactériostatique	Gram +	
Antibiotiques hors lactation	β-Lactamines	Céfalexine	Rilexine® H.L.	Bactéricide	Gram + et Gram -
		Cefalonium	Arentor®		
			Cepritect® 250 mg Seclaris® DC 250 mg		
		Céfapirine	Cepravin® Facel H.L.®		
		Céfazoline	Cefovet® HL		
		Cefquinome	Virbactan®		
		Cloxacilline	Cloxine® HL Orbenin® hors lactation Orbenor® hors lactation Tarigermel® Permaway 600 mg®		
	β-Lactamines + aminoglycosides	Cloxacilline + néomycine	Cloxiagel® HL	Bactéricide	Gram + et Gram -
		Pénicilline G + framycétine	Ubrostar®		
		Pénicilline G + nafcilline + dihydrostreptomycine	Napfenzal® T		
		Pénicilline G + néomycine	Mastitar® HL Multishield® DC		
	Rifamycines	Rifaximine	Fatrox®	Bactéricide	<i>Staph. aureus</i> , <i>St. agalactiae</i> , <i>St. dysgalactiae</i> , <i>St. uberis</i>

Tableau XII : présentation des principales associations antibiotiques et anti inflammatoires utilisables par voie intra mammaire pour le traitement des mammites bovines, et leurs caractéristiques (d'après (22))

	Famille d'antibiotiques	Molécules	Exemples de spécialités	Mode d'action	Spectre d'action
Antibiotiques en lactation + anti inflammatoire	β-Lactamines	Amoxicilline + acide clavulanique + <i>prednisolone</i>	Synulox® intra mammaire Noroclav®	Bactéricide	Gram + et Gram -
		Céfapirine + <i>prednisolone</i>	Mastiplan® LC		
	Aminosides + polypeptides + tétracycline	Néomycine + bacitracine + tétracycline + <i>prednisolone</i>	Mastijet®	Bactéricide	<i>Staph. aureus, St. dysgalactiae et St. uberis, E. coli</i>

## 2. Traitements symptomatiques et de soutien

Les mammites sévères sont associées à des états de choc ainsi que des inflammations locales importantes. Cela nécessite une thérapie de soutien et la prise en charge de la douleur.

### a) La fluidothérapie

En cas d'état de choc septique et ou endotoxinique, une fluidothérapie est nécessaire. Pour cela, il faut évaluer l'état de déshydratation de l'animal. Cette réhydratation peut se faire par voie orale comme par voie intraveineuse en fonction du contexte.

Pour une déshydratation légère à modérée, entre 6% et 10%, il est possible de perfuser une solution hypertonique de NaCl entre 4,5% et 7,2%. Pour une déshydratation sévère, supérieure à 10%, l'animal peut présenter de la déshydratation cellulaire. Il faut donc privilégier une réhydratation par voie intraveineuse à base d'un volume important de solution isotonique, tel que du Ringer Lactate (22).

### b) Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou glucocorticoïdes

La prednisolone est utilisée pour le traitement des mammites cliniques par voie intramammaire. Elle limite les dommages fait à la barrière épithéliale ainsi que les dégâts cellulaires. Cela pourrait exercer une influence sur l'efficacité du traitement antibiotique ainsi que sur la sévérité de la mammite (23).

L'administration de glucocorticoïdes par voie systémique semble avoir un effet positif sur les paramètres cliniques, hématologiques et biochimiques des vaches atteintes de

mammites (24). Néanmoins, leur utilisation est controversée car elle induirait une baisse d'immunité qui pourrait favoriser l'apparition de signes cliniques chez des individus présentant des infections subcliniques à staphylocoques (22).

### *c) Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)*

Différents AINS possèdent une indication pour le traitement des mammites cliniques : le kétoprofène, le carprofène, la flunixin et le méloxicam. L'utilisation de ces anti-inflammatoires utilisés de manière systémique a un intérêt sur le taux de guérison, la reprise de la production, le confort de l'animal et ils favorisent l'efficacité du traitement (25).

L'utilisation d'AINS par voie intramammaire semblerait permettre une reconstitution accélérée de la barrière épithéliale après l'infection (26).

Ces anti-inflammatoires sont majoritairement utilisés lors de mammite par les vétérinaires français (27).

### 3. Les alternatives aux antibiotiques

Le développement de l'agriculture biologique et l'apparition des plans ECOANTIBIO a permis l'essor des médecines alternatives. En pathologie mammaire, trois d'entre elles sont utilisées :

- **L'homéopathie**, qui consiste à administrer à des doses infinitésimales des remèdes capables, à des doses plus élevées, de produire des symptômes semblables à ceux de la maladie (28). La voie la plus couramment utilisée dans le cadre de mammites est la voie orale avec l'utilisation de granules, poudres ou globules. L'utilisation de ces produits ne semble pas présenter de risques de toxicité ni entraîner la présence de résidus dans le lait. Certains médicaments homéopathiques détiennent une AMM pour le traitement des mammites bovines, et peuvent donc être prescrits comme tout autre médicament (22).
- **La phytothérapie**, qui consiste à traiter une maladie par les plantes ou leurs extraits. Il est possible d'utiliser la voie intramammaire mais aussi la voie locale transcutanée, en effectuant des massages ou des cataplasmes. Les plantes couramment utilisées en phytothérapie présentent rarement des toxicités élevées. Les risques proviennent de

mésusages, d'une concentration inhabituelle d'une substance au sein d'une plante, ou d'interactions médicamenteuses.

- **L'aromathérapie**, qui repose sur l'utilisation médicale des huiles essentielles (28). Il est possible d'utiliser la voie intramammaire comme la voie locale transcutanée, avec des massages ou des pulvérisations. Les huiles essentielles peuvent présenter une toxicité élevée, en entraînant notamment des réactions cutanées violentes. Il est donc important d'en tenir compte lors de leur utilisation, en les diluant dans une huile végétale et en prenant des précautions pour l'applicateur, tel que le port de gants ou de masque (22).

Il est important de préciser que l'utilisation de ces extraits de plantes comme médicament doit se faire soit dans le cadre d'une AMM, soit sous la forme de préparations extemporanées réalisées par le vétérinaire. Or il n'existe pas d'AMM actuellement déposée pour cela. Le vétérinaire peut réaliser une préparation extemporanée en utilisant les substances « plantes » et « huiles essentielles » inscrites dans le tableau 1 du règlement 37/2010. Il est alors nécessaire de respecter les délais d'attente forfaitaires correspondant à une préparation magistrale : sept jours pour le lait et 28 jours pour la viande en agriculture conventionnelle (29).

Cependant, peu d'études ont encore été menées pour démontrer l'efficacité de ces thérapies alternatives (30).

## B. Traitement des mammites cliniques

### 1. Arbre décisionnel du traitement des mammites cliniques (31)

Le vétérinaire doit adapter sa prescription à la situation et à l'état de l'animal. Pour cela, l'examen clinique et le recueil des informations concernant l'animal et l'infection sont essentiels. Ils permettent de déterminer la catégorie de l'infection et d'ainsi choisir une thérapie adaptée, comme présenté dans la figure 5.

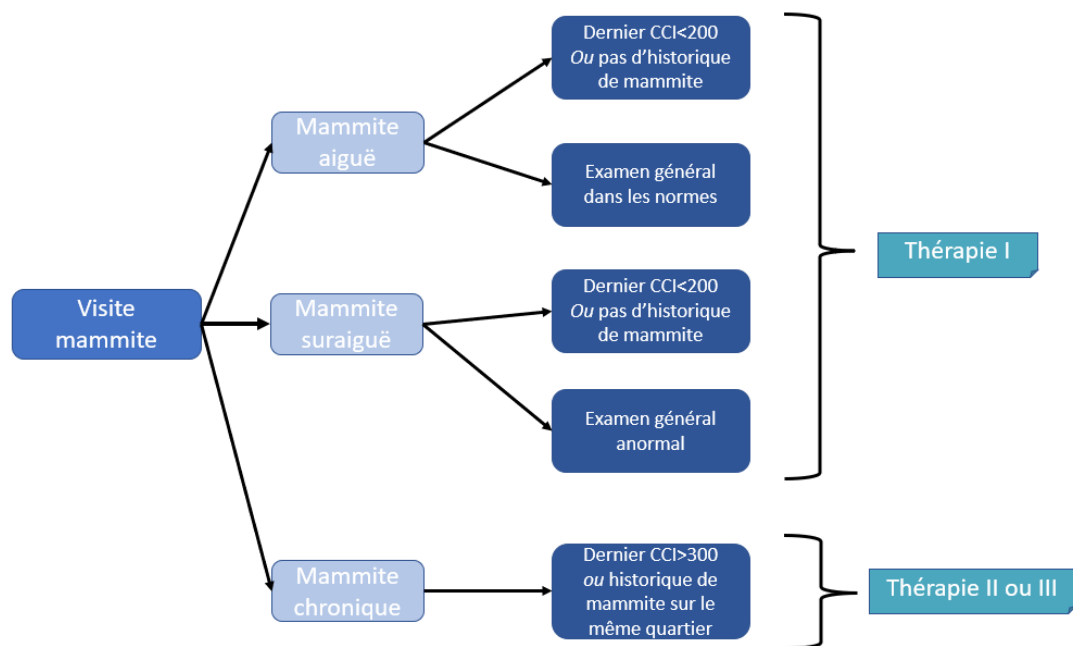


Figure 5 : le choix du traitement en fonction des caractéristiques de la mammite (d'après (31))

La thérapie I est utilisée lors de cas aigus pour des animaux avec une CCI supérieure à 300 000. Il faut adapter le traitement aux germes du troupeau et réévaluer la CCI au bout de trente à soixante jours. La thérapie II est utilisée lors de cas chroniques. C'est une thérapie de support clinique avec des anti-inflammatoires, un traitement antibiotique si nécessaire et un traitement au tarissement. La thérapie III est utilisée en cas de perte fonctionnelle. Elle consiste à un tarissement prématuré avec des antibiotiques, une agalactie induite, une chirurgie du trayon ou une réforme prématurée.



## 2. Choix du traitement pour une mammite aiguë

Comme défini précédemment une mammite aiguë peut avoir une sévérité faible à modérée. Le traitement sera donc à adapter en fonction des caractéristiques de l'inflammation.

Le traitement d'une mammite aiguë non sévère va dépendre de l'agent bactérien mis en cause. Une étude de 2019 a montré que lorsque l'examen bactériologique révèle une absence de pousse ou un colibacille, la guérison est aussi bonne sans traitement antibiotique qu'avec une antibiothérapie locale large spectre (32). En effet, lorsqu'*Escherichia coli* est isolée d'une mammite non sévère, le pourcentage de guérison spontanée est entre 80% et 95%. Lorsque le prélèvement revient stérile, ce pourcentage se trouve entre 75% et 85% (33). Dans le cas où un autre agent bactérien est mis en cause, le traitement repose principalement sur l'utilisation d'antibiotiques qui peuvent être administrés par voie générale ou par voie locale. En cas de gravité modérée de la mammite, des anti-inflammatoires peuvent venir compléter le traitement antibactérien.

La Figure 6 présente un arbre de décision permettant d'adopter le traitement adéquat face à une mammite clinique aiguë en fonction de sa sévérité et du résultat de l'analyse bactériologique.

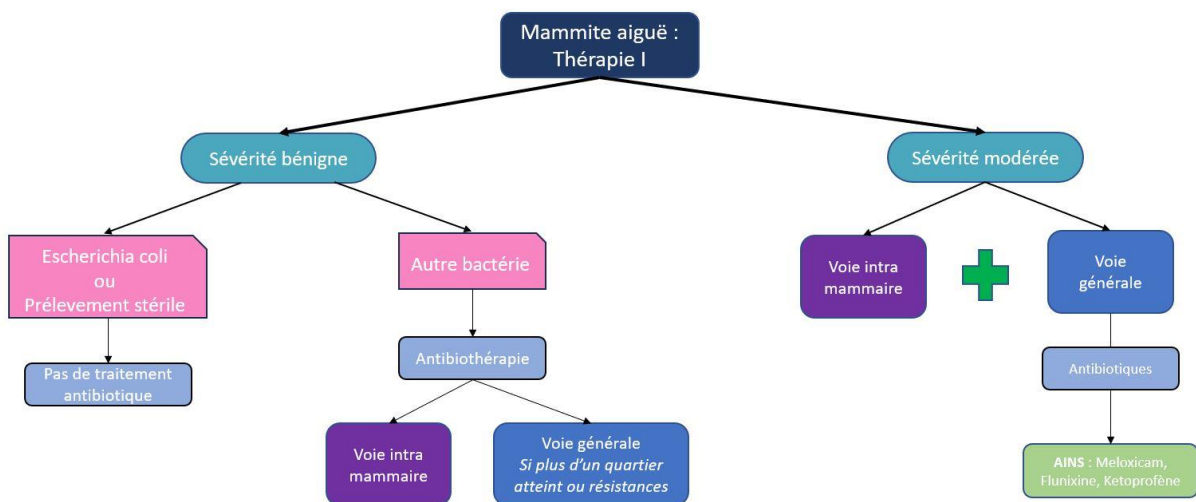


Figure 6 : arbre de décision pour le traitement des mammites aiguës en fonction de leur sévérité (d'après (31)).

### 3. Choix du traitement pour une mammite suraiguë

Une mammite suraiguë est accompagnée de signes cliniques généraux et d'une dégradation rapide de l'état général de l'animal. La prise en charge par le vétérinaire est alors indispensable et doit être rapide et adaptée. Cette prise en charge repose sur un examen clinique approfondi qui permettra de déterminer la sévérité de l'infection. Le vétérinaire doit juger de l'état de choc ou non de l'animal pour ainsi proposer le meilleur traitement. Ce traitement reposera sur l'utilisation d'antibiotiques ainsi que d'anti-inflammatoires par voie générale. En cas d'état de choc ou de déshydratation, une fluidothérapie pourra être mise en place.

Concernant l'antibiothérapie à mettre en place en cas de mammite sévère, un traitement par voie systémique est indispensable, et a deux objectifs principaux : lutter contre la bactériémie et limiter la croissance bactérienne à l'intérieur de la mamelle pour réguler le relargage d'endotoxines. Le traitement de choix est l'utilisation de fluoroquinolones en « one shot ». Les fluoroquinolones font partie des antibiotiques critiques qui nécessitent un prélèvement de lait suivi d'une analyse bactériologique et d'un test de sensibilité. L'association triméthoprim/sulfamide est aussi régulièrement utilisée sur le terrain, ce n'est cependant pas le traitement à privilégier (34) (35). La Figure 7 présente les traitements à employer.

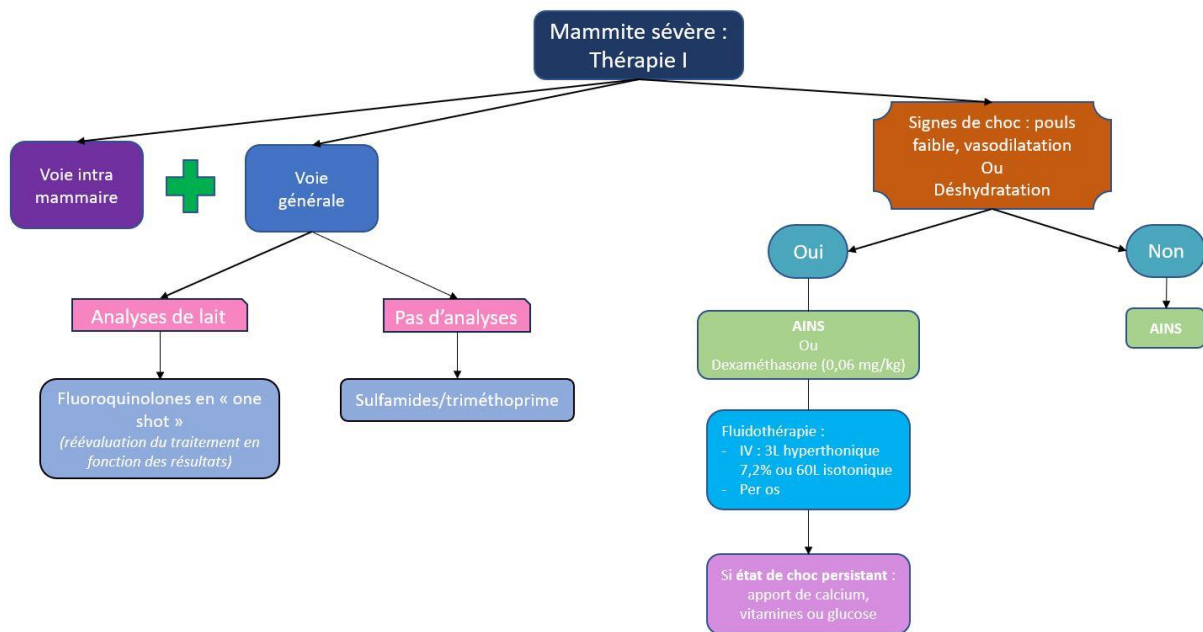


Figure 7 : traitement d'une mammite sévère en fonction de ses caractéristiques (d'après (31))

### C. Traitement des mammites subcliniques et chroniques

Les mammites subcliniques ne présentent pas de danger immédiat pour la vie de la vache et il est possible d'attendre le résultat d'une bactériologie avant de choisir le traitement. Il est d'autant plus important d'identifier le germe responsable de la mammite subclinique car de nombreux cas sont liés à des infections chroniques, notamment à *Staphylococcus aureus*, qui nécessitera un traitement particulier pour contrer la potentielle fibrose ainsi que les micro-abcès induits par ce germe (36).

Le traitement peut se faire au cours de la lactation ou lors du tarissement. En cas d'un nombre élevé de récives, il est judicieux de tarir le quartier voir de réformer l'animal. La Figure 8 permet de choisir le traitement adapté.

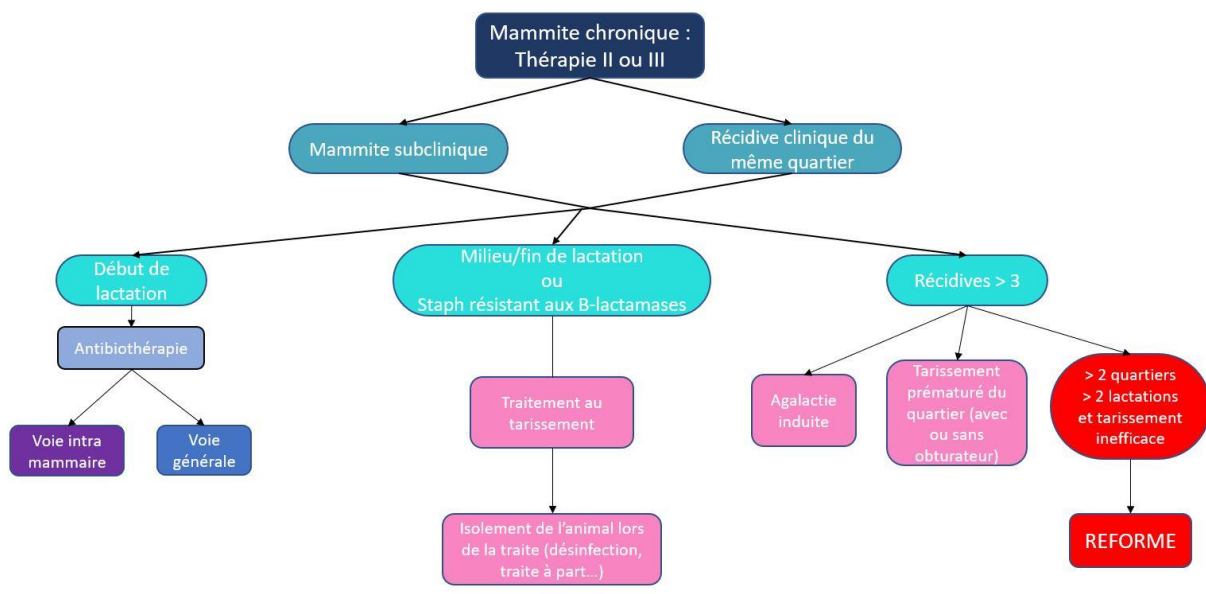


Figure 8 : mise en place d'une thérapie adaptée en cas de mammite chronique (d'après (31))

Le traitement au tarissement peut se faire de différentes manières sur un troupeau, en fonction de l'élevage et de sa situation épidémiologique au cours de la lactation et de la période sèche. Les différentes stratégies sont (37):

- L'arrêt de tout traitement au moment du tarissement,
- L'administration systématique d'obturateur interne,
- Le traitement antibiotique des seuls animaux infectés,
- Le traitement antibiotique sélectif des seuls animaux infectés conjointement à l'utilisation d'obturateurs internes sur les vaches ne recevant pas de traitement antibiotique,
- Le traitement antibiotique sélectif associé à un obturateur interne sur toutes les vaches.

## IV. L'antibiorésistance dans le cadre des mammites

### A. Définitions

L'**antibiorésistance** correspond à la capacité d'une bactérie à résister à l'action d'un antibiotique. L'usage d'antibiotiques a contribué à une pression de sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques avec notamment l'acquisition de gènes de résistance. Les bactéries sensibles aux antibiotiques ont vu leur population décroître au profit des bactéries résistantes (38). Cette résistance bactérienne peut avoir une origine naturelle ou acquise.

Les **résistances naturelles** sont dues aux caractéristiques spécifiques des bactéries. Le plus souvent les bactéries sont résistantes car la cible de l'antibiotique est absente ou inaccessible. Certaines bactéries peuvent aussi présenter des enzymes ou des systèmes d'export permettant d'inactiver le principe actif (39).

Les **résistances acquises** peuvent être dues à des mutations de gènes de la bactérie ou à l'acquisition de gènes étrangers ou nouveaux, communément appelés gènes de résistance. Ces gènes peuvent conférer une résistance à tout un groupe d'antibiotiques ou seulement à un antibiotique précis. Ils peuvent aussi conférer une résistance à différents antibiotiques de groupes différents. Les mécanismes de résistance acquise peuvent être classés en 3 grandes catégories : la modification ou l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la réduction de l'accumulation intracellulaire d'antibiotique et l'altération des cibles de l'antibiotique (39).

Les **transferts** de gènes de résistance se font de manière uniquement verticale pour les gènes situés sur le chromosome bactérien ou sur l'ARN 16S et 23S. Les gènes de résistance mobiles sont quant à eux transférables de manière verticale et horizontale. Ce sont les transferts horizontaux qui contribuent à la dissémination de ces propriétés de résistance (39).

### B. L'importance de la maîtrise de l'antibiorésistance en médecine de rente

#### 1. Le concept One Health

Le concept « One Health » ou « une seule santé » en français repose sur une approche globale de la santé qui relie la santé humaine, animale et végétale ainsi que les écosystèmes

dans lesquels elles existent (40). Cette politique est apparue dans les années 2000 et est défendue à l'échelle planétaire par l'Organisation Mondiale de la Santé (41). La maîtrise de l'antibiorésistance est une des priorités de l'OMS, qui a élaboré en mai 2015 un plan d'action mondial de lutte contre la résistance aux antimicrobiens (42).

Les risques de transmission de bactéries résistantes entre humains et animaux et les conséquences que peut engendrer un usage abusif ou inadapté des antibiotiques en médecine vétérinaire sur la santé humaine et inversement mettent en lumière l'importance d'une approche globale de la lutte contre les résistances bactériennes. En effet, l'administration d'antibiotiques aux animaux de rente peut entraîner l'apparition de résistances qui pourront ensuite être transmises à d'autres individus par contact direct, au travers de l'environnement par l'inhalation de poussières par exemple ou encore via la chaîne alimentaire. La figure suivante présente les voies de transmission possibles des résistances entre l'homme, les animaux de rente et l'environnement (43).

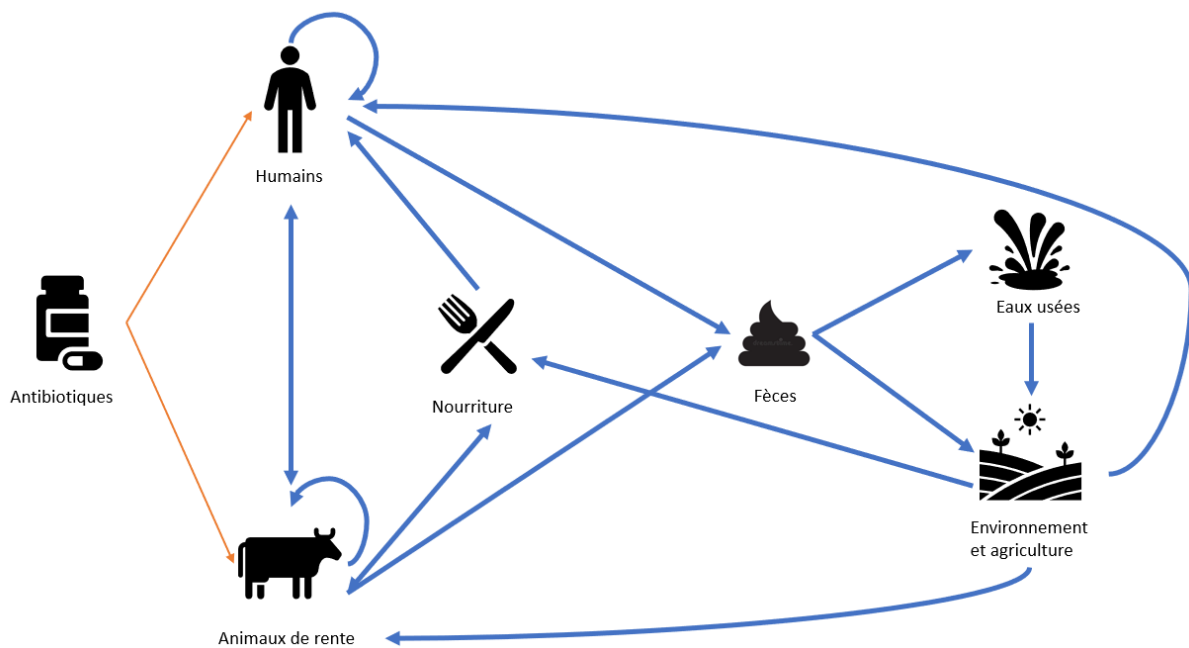


Figure 9 : schéma des voies de transmission de résistances aux antibiotiques entre l'homme, l'animal et l'environnement (d'après (43))

## 2. Les plans Ecoantibio

Au vu de l'importance de cette problématique, la France, à travers le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, a mis en place un dispositif de lutte contre l'antibiorésistance pour ce qui concerne la santé animale (44).

Le premier plan Ecoantibio de 2012 à 2016 avait pour premier objectif de réduire de 25% en cinq ans l'exposition des animaux aux antibiotiques tout en prenant garde à l'utilisation des antibiotiques d'importance critique en médecine humaine et animale. Le deuxième objectif était de préserver l'arsenal thérapeutique que constituent les antibiotiques.

Ce plan était basé sur cinq axes principaux (45) :

- Promouvoir les bonnes pratiques et sensibiliser les acteurs aux risques liés à l'antibiorésistance,
- Développer des alternatives aux antibiotiques,
- Renforcer l'encadrement et réduire les pratiques à risque,
- Encourager le suivi de la consommation des antibiotiques ainsi que de l'antibiorésistance,
- Promouvoir les approches européennes et les initiatives internationales.

Le deuxième plan Ecoantibio de 2017 à 2022 visait à évaluer l'impact du premier plan, en valorisant les résultats et en poursuivant dans la même dynamique. Ce plan était basé sur quatre axes principaux (2) :

- Le développement de mesures de prévention des maladies infectieuses et un recours facilité aux traitements alternatifs ;
- Une communication et une formation accrues sur les enjeux de lutte contre l'antibiorésistance, la prescription raisonnée des antibiotiques et les autres moyens de maîtrise des maladies infectieuses,
- La mise à disposition d'outils d'évaluation et de suivi du recours aux antibiotiques, et des outils pour leur prescription et leur administration de manière raisonnée,
- Une surveillance sur la bonne application des règles de bon usage au niveau national et une propagation de ces mesures en Europe et à l'international.

Les plans Ecoantibio ont été un succès avec une baisse importante de la consommation des antibiotiques ainsi qu'un usage raisonné et une meilleure sensibilisation des différents acteurs. Les progrès ont été importants et rapides lors du premier plan. Lors du deuxième plan, le rythme s'est ralenti jusqu'à stagner. Un plan Ecoantibio 3 est en cours d'élaboration. Il sera axé sur une stabilisation de la consommation moyenne des antibiotiques ainsi que sur le développement de moyens de communication, de formation et d'outils d'aide à la prescription (44).

### 3. Le RESAPATH

Le RESAPATH correspond au réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales en France, et s'inscrit dans les politiques publiques de maîtrise de l'antibiorésistance. Il a été créé en 1982 pour étudier l'antibiorésistance chez les bovins, puis s'est étendu aux porcs et aux volailles en 2001 et aux chevaux, chiens et chats en 2007. Ce réseau est coordonné par l'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) et regroupe de nombreux laboratoires d'analyses vétérinaires publics ou privés en France. Les laboratoires adhérents transmettent au RESAPATH leurs résultats d'antibiogrammes, réalisés en suivant la norme AFNOR U47-107. Le RESAPATH collecte ainsi pour chaque antibiogramme, la bactérie identifiée, les antibiotiques testés, les diamètres mesurés des zones d'inhibition, la date de l'analyse et, si les informations sont communiquées, l'espèce animale, sa catégorie d'âge, la pathologie, le type de prélèvement et le département. Le recueil de ces informations rentre dans les objectifs du RESAPATH qui sont (46) :

- La surveillance de l'antibiorésistance chez les bactéries à l'origine d'infections chez l'animal,
- Un appui scientifique et technique sur la méthodologie de l'antibiogramme et son interprétation pour les laboratoires adhérents,
- La détection de phénotypes de résistance émergents et leur dissémination
- Une contribution à la caractérisation des mécanismes moléculaires responsables de la résistance.

Les données du RESAPATH sont consultables en accès libre sur internet, sur le site de l'ANSES. Il est possible de visionner et de télécharger les proportions de souches sensibles aux



différents antibiotiques pour différentes bactéries impliquées dans diverses pathologies animales, mais aussi des courbes d'évolution temporelle des souches sensibles.

En 2021, le RESAPATH comptait 101 laboratoires partenaires, tous en France métropolitaine, et a réuni 62 070 antibiogrammes toutes espèces confondues. Sur ce total d'antibiogrammes collectés, 11 230 proviennent de prélèvements effectués sur des bovins et 3 736 sont issus de mammites (47).

### C. Antibiorésistance et traitement contre les mammites bovines

#### 1. L'émergence de résistances bactériennes liées aux traitements des mammites

En élevage bovin laitier, les traitements des mammites représentent 68% des traitements antibiotiques utilisés (48). Or, comme nous l'avons vu précédemment, un usage abusif ou un mauvais usage des antibiotiques tend à exercer une pression de sélection sur les bactéries et ainsi favorise l'apparition de résistances. Ainsi, pour limiter ces risques, il faut choisir l'antibiotique, la voie d'administration, le dosage et la durée du traitement adaptés en fonction du pathogène, du site d'infection, et des caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de l'antibiotique utilisé (49).

Les voies d'administration utilisées en cas de mammites sont la voie intramammaire ou la voie générale. Une étude menée en 2002 en France sur 8 990 bovins montre que, en cas de mammite clinique, un traitement intramammaire est entrepris dans 97% des cas, et dans 35,7% des cas un traitement systémique est mis en place. La combinaison d'un traitement intramammaire et systémique a lieu dans 23,8% des cas (50). Les risques d'apparition de résistance ne sont pas égaux en fonction de ces voies

Concernant l'impact des antibiotiques sur les résistances des bactéries **du foyer infectieux mammaire**, il a été montré que l'utilisation de pénicilline-novobiocine intramammaire au tarissement et l'utilisation de pirlimycine au cours de la lactation sont associées à une augmentation des résistances de *Staphylococcus aureus* à la pénicilline et à l'ampicilline. Les utilisations hors lactation de cloxacilline, de pénicilline-novobiocine ainsi que de céfapirine sont corrélées positivement à l'apparition de résistance à l'ampicilline chez *Escherichia coli*. Pour ce qui est des traitements par voie générale quelques études à l'échelle

de troupeaux ont été menées. Concernant *Staphylococcus aureus* une étude a montré que l'utilisation de pénicilline par voie systémique augmente le risque d'apparition de résistances à cette molécule. Concernant *Escherichia coli* il a été montré que l'utilisation de pénicilline G est associée à l'isolement de bactéries résistantes à l'ampicilline ou à la streptomycine et aux tétracyclines. Concernant les Staphylocoques à coagulase négative, une étude canadienne a montré une corrélation entre l'apparition de résistances et l'utilisation de manière systémique de pénicillines, de céphalosporines de troisième génération et de macrolides (51).

Une étude se basant sur les résultats du RESAPATH entre 2006 et 2016 montre que le niveau d'antibiorésistance des principales bactéries issues de mammites (*Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* et les *Staphylocoques à coagulase positive*) n'a globalement pas augmenté sur cette période. Pour *Streptococcus uberis*, la résistance moyenne aux antibiotiques testés a toujours été d'au maximum 20% ; pour *Escherichia coli*, une augmentation significative de la résistance au ceftiofur est rapportée, ainsi qu'une résistance de 28% à l'amoxicilline ; pour les *Staphylocoques à coagulase positive*, la résistance aux pénicillines est élevée, à 33,9%, mais reste au-dessous de 11% pour les autres antibiotiques (52).

Concernant l'impact des antibiotiques sur les résistances des bactéries **de la flore intestinale des vaches**, il a été montré que lors de l'utilisation d'une céphalosporine comme traitement intramammaire au tarissement, on dénombre plus de coliformes présentant une sensibilité réduite à la céfalotine et à la streptomycine que lors de l'utilisation d'une association de pénicilline-streptomycine. Lors de l'utilisation au cours de la lactation de pirlimycine en intra mammaire, la diversité fécale observée des vaches traitées est diminuée, de manière brève pour un traitement de deux jours et de manière durable pour un traitement long de huit jours. Pour ce qui est de l'utilisation d'antibiotiques par voie systémique, il a été montré que cela avait un impact sur la flore fécale des vaches traitées, notamment avec l'utilisation de macrolides, de tétracyclines et de ceftiofur qui est corrélée à l'apparition de résistances voir de multirésistances. Avec l'utilisation d'association de pénicilline et d'aminosides, des augmentations de résistance aux aminosides chez *Pastereulla multocida* et *Maniema haemolytica*, des bactéries de la flore du naso-pharynx, ont été rapportées (50).

## 2. Conséquences de ces traitements et propagation des résistances acquises

Comme nous l'avons montré précédemment, l'utilisation d'antibiotiques dans le traitement des mammites exerce une pression de sélection et ainsi favorise l'apparition de résistances chez les bactéries de la flore intestinale des vaches traitées mais aussi chez les bactéries des mammites. Ces bactéries résistantes, voir multirésistantes, peuvent ensuite être disséminées dans l'environnement ou infecter de nouveaux individus, animaux ou humains.

La contamination de l'environnement peut se faire à travers le lait contaminé ou bien par les bactéries de la flore fécale de la vache. Une fois dans l'environnement, ces bactéries porteuses de résistances peuvent infecter de nouveaux individus, mais cela peut aussi favoriser la transmission horizontale de ces résistances avec des échanges de gènes entre bactéries.

La contamination aux humains peut avoir lieu lors de l'ingestion de produits alimentaires contaminés. On peut citer l'exemple de la consommation de fromages au lait cru contaminés par des MRSA pouvant provoquer des intoxications alimentaires. Bien que la résistance à la méthicilline ne soit pas liée à la production d'entérotoxines, entérotoxines entraînant les signes cliniques de l'intoxication, ces infections peuvent conduire à une dissémination des bactéries résistantes et ainsi amener à un problème de santé publique (53). L'éleveur peut aussi être contaminé lors de la traite s'il ne respecte pas une hygiène stricte. Une étude a montré que des fermiers pouvaient être victimes d'infections zoonotiques à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline suite à une contamination lors de la traite par du lait porteur de ces germes (54).

Ces bactéries résistantes peuvent aussi contaminer d'autres bovins. Tout d'abord, il peut y avoir une contamination des autres vaches lors de la traite si les mesures d'hygiène ne sont pas respectées. Les veaux peuvent aussi être soumis à une contamination, par la consommation de lait contenant des agents infectieux ayant subis une pression de sélection lors du ou des traitements (50).

Il a été montré que l'impact de la distribution de lait de vaches ayant subi une antibiothérapie sur le microbiote des veaux, repose principalement sur les résidus

d'antibiotiques dans le lait. En effet, ces résidus engendreraient une pression de sélection sur la flore digestive et nasale des veaux, avec l'identification de colibacilles et des *Pasteurella multocida* présentant significativement plus de résistances que des veaux ayant reçu du lait sans résidus (50).

## DEUXIEME PARTIE : Réalisation en cabinet des examens bactériologiques

### I. Les prérequis :

#### A. Généralités

Dans un contexte actuel de changement des habitudes de consommation, les éleveurs ainsi que les vétérinaires ont dû s'adapter pour répondre aux mieux aux changements sociétaux. La demande de produits issus d'une agriculture biologique, raisonnée, respectueuse de l'environnement et des animaux ne cesse d'augmenter. Le lait d'origine biologique en France correspond à 5,6% des ventes totales de lait en 2021 (55). L'achat de lait biologique est motivé en premier lieu par l'idée reçue que le lait biologique est meilleur pour la santé (56). Une étude américaine de 2021 montre que 90% des consommateurs estiment que l'utilisation d'antibiotiques en élevage laitier est une menace pour leur santé (57).

On observe aussi une évolution des pratiques vétérinaires avec la popularisation de la vente de service. De ce fait, le vétérinaire n'intervient plus seulement dans l'élevage pour des urgences ou de la médecine individuelle mais aussi pour de la médecine collective. Le vétérinaire est alors consultant et accompagnateur de l'éleveur (58). Une étude menée en France montre que 80% des éleveurs ont confiance en leur vétérinaire, plus qu'aux autres personnes qui interviennent sur l'exploitation, tels que l'inséminateur ou encore le contrôleur laitier. De plus, 60% des éleveurs sont prêts à payer des prestations de service si cela peut leur permettre de diminuer leur budget médicaments (59).

Ces attentes de la société, des éleveurs ainsi que des vétérinaires ont conduit à l'élaboration et la popularisation d'outils d'aide au diagnostic bactériologique et à la réalisation d'antibiogrammes en clinique. Différents laboratoires vétérinaires tels que Zoetis®, Vetoquinol® ou encore Dechra® ont mis sur le marché des tests rapides permettant d'assister le vétérinaire dans la réalisation d'analyses de lait. Ces analyses permettent au vétérinaire de conseiller au mieux les éleveurs sur la prise en charge médicale des mammites et ainsi de diminuer et d'optimiser l'utilisation des antibiotiques.

## B. Valeur ajoutée pour l'éleveur des analyses bactériologiques faites par le vétérinaire

### 1. Le coût d'une mammite

Les mammites ont un impact financier important en élevage laitier. En effet, une étude de 2020 montre que le coût total d'un événement de mammite clinique (correspondant aux pertes engendrées par cette mammite ainsi qu'à son traitement) est en moyenne de 224 euros. Ce coût varie en fonction de la nature de la bactérie : pour une mammite clinique liée à une bactérie Gram positif, le coût est en moyenne de 150 à 250 euros ; pour une mammite clinique liée à une bactérie Gram négatif, le coût est en moyenne de 500 euros (60). Cette différence s'explique par la complexité du traitement lors de mammites à Gram négatif ainsi que par les pertes majeures engendrées (perte de lait, parfois perte du trayon). L'utilisation d'un traitement antibiotique prolongé semble faire diminuer le coût d'une mammite clinique, en augmentant les chances de guérison clinique et bactériologique. A l'inverse, l'utilisation d'un obturateur au tarissement plutôt que d'un antibiotique de manière systématique n'a pas de répercussion sur l'impact économique de la mammite. Concernant la bactériologie systématique avant traitement, elle présente un intérêt économique dans des élevages où la prévalence de mammites à Gram positif est faible et où de nombreuses mammites non sévères à Gram négatif sont observées (61).

Dans ce contexte, la réalisation **d'analyses bactériologiques** et **d'antibiogrammes** permet à minima d'identifier le germe et donc d'estimer le coût de la mammite. Ensuite, l'analyse de la sensibilité aux antibiotiques de la bactérie identifiée permet d'adapter la décision médicale, et ainsi diminuer les coûts liés à une potentielle rechute ou ceux liés à la transmission du pathogène en l'absence de guérison bactériologique.

### 2. La prescription d'un traitement adapté

#### a) *Prescrire le bon antibiotique seulement s'il est nécessaire*

Un traitement précoce et adapté de la mammite permet une guérison plus rapide et dans 60% des cas, une diminution des signes cliniques (62). De plus, dans le contexte actuel

de réduction de l'utilisation des antibiotiques, les analyses complémentaires en bactériologie prennent tout leur sens. En effet, l'utilisation des antibiotiques doit être raisonnée et adaptée à la bactérie responsable de l'infection.

La réalisation de **l'analyse bactériologique** nous informe sur l'origine bactérienne ou non de la mammite. Comme vu dans la partie précédente, cela permet au vétérinaire d'évaluer l'opportunité de mettre en place une antibiothérapie. Le cas échéant, le vétérinaire doit prescrire l'antibiotique adapté en tenant compte notamment de son spectre. Il peut compléter cette analyse par un **antibiogramme** qui fournira des informations sur les résistances acquises de la bactérie identifiée, ce qui permettra d'affiner d'autant plus son choix de traitement antibiotique.

Prenons l'exemple d'une mammite clinique pour laquelle **l'analyse bactériologique** permet d'identifier un *Staphylococcus aureus*. Cette infection devra être traitée comme une infection profonde et bien établie. Un **antibiogramme** permettra de savoir si la souche identifiée est résistante à la méthicilline, à la pénicilline et à la pirlimycine. En fonction des résultats de l'antibiogramme, nous pouvons mettre en place un traitement adapté (63) :

- La bactérie est sensible aux antibiotiques cités, on peut traiter avec du pénéthamate par voie injectable et de la pénicilline G par voie locale pendant au moins trois jours ;
- La bactérie est sensible à la pirlimycine mais résistante à la pénicilline, on peut traiter avec de la pirlimycine par voie locale pendant huit jours ;
- La bactérie est résistante à la méthicilline et/ou à la pénicilline et à la pirlimycine, on peut conseiller la réforme.

#### *b) La prescription des antibiotiques critiques*

Le 16 mars 2016, un décret définit et encadre l'utilisation des antibiotiques d'importance critique en médecine vétérinaire. Sont concernés par ce décret les céphalosporines de troisième et quatrième génération (ceftiofur, cefquinome, céfopérazone et céfovécine) ainsi que les fluoroquinolones (danofloxacin, enrofloxacin, marbofloxacin). La prescription de ces antibiotiques critiques est conditionnée par la réalisation d'un examen clinique de l'animal et la réalisation d'un examen complémentaire visant à identifier la souche

bactérienne responsable de l'infection et à caractériser le profil de sensibilité de la souche bactérienne identifiée. Un antibiotique critique peut être prescrit avant d'avoir connaissance des résultats des examens complémentaires lorsqu'il s'agit d'un cas aigu d'infection bactérienne pour laquelle un traitement avec d'autres familles d'antibiotiques serait insuffisamment efficace. Dans un délai de quatre jours après la prescription, le vétérinaire doit cependant adapter le traitement en fonction de l'évolution du contexte clinique et épidémiologique et des résultats des examens complémentaires (64).

Comme cela a été vu dans la partie sur le traitement des mammites, l'utilisation de fluoroquinolones est justifiée dans le traitement en première intention des mammites sévères (35). La prescription doit obligatoirement être accompagnée d'un **antibiogramme** réalisé selon une des méthodes fixées par arrêté conjoint des ministres chargés de la santé et de l'agriculture (64). En fonction des résultats des **analyses bactériologiques** et de l'**antibiogramme**, le traitement peut être réadapté si un streptocoque est isolé par exemple.

### 3. Avantages de la réalisation des analyses à la clinique

#### *a) Un délai d'attente moindre*

Les analyses de lait peuvent être réalisées au sein de laboratoires d'analyse vétérinaire ou, si les vétérinaires disposent du savoir-faire et du matériel, au sein même de la clinique vétérinaire. Nous allons ici présenter les avantages de la réalisation de ces analyses en clinique.

Pour obtenir le résultat d'une **analyse bactériologique** en laboratoire, il faut attendre au minimum deux jours et demi à trois jours (selon la vitesse de pousse de la souche bactérienne et sous réserve que le milieu de culture soit adapté), et si un antibiogramme est demandé en complément, le résultat est obtenu deux jours après. Entre la réalisation du prélèvement, l'acheminement jusqu'au laboratoire et la réalisation des analyses, il faut donc compter un minimum de cinq jours de délai. Lorsque les analyses sont réalisées à la clinique, l'identification bactériologique peut être réalisée vingt-quatre heures après l'ensemencement, et la lecture de l'**antibiogramme** est réalisée vingt-quatre heures après l'ensemencement de l'antibiogramme. En moyenne, les résultats d'analyses sont donc



obtenus deux jours après la réception du prélèvement à la clinique, ce qui est donc deux fois plus rapide que des analyses en laboratoire (65).

#### *b) Inclure les analyses de lait dans une notion de service*

La réalisation de ces analyses de lait au sein de la clinique peut être valorisée par les vétérinaires au sein de divers services mis en place par la clinique. L'idéal pour l'éleveur consiste en un service global personnalisé, mensualisé, qui permet de résoudre ses problèmes individuels et de répondre à ses besoins spécifiques. Pour le vétérinaire, proposer une offre de service, présente différents avantages : il peut ainsi se démarquer de la concurrence en proposant une plus-value, mieux défendre sa marge car il est plus difficile de comparer deux services sur un point de vue financier et enfin, il prend en compte le besoin de personnalisation en s'adaptant à l'élevage (66).

Tout d'abord, le vétérinaire a évidemment un rôle de conseil et doit discuter avec l'éleveur des résultats d'analyses obtenus et de la conduite à tenir. Cela peut se faire sous la forme d'un compte rendu envoyé par mail à l'éleveur, ou par une discussion de vive voix. Les analyses de lait trouvent aussi leur place dans les audits, avec la mise en place d'une visite de traite, de prélèvements de lait effectués sur des vaches en mammites cliniques ou à cellules, et d'un suivi régulier de l'élevage. Ces audits ont pour but d'augmenter la qualité du lait et de diminuer les pertes liées aux mammites et aux cellules. Enfin, les analyses bactériologiques peuvent être réalisées lors de la mise en place de campagnes de vaccination contre les mammites.

### C. Les limites de ces analyses

#### 1. Des frais supplémentaires

La réalisation de ces analyses représente un coût pour l'éleveur mais aussi pour le vétérinaire qui doit tout d'abord investir dans le matériel nécessaire à la réalisation des bactériologies et ensuite gérer les consommables pour éviter les péremptions et donc les pertes économiques.

Les analyses réalisées en cabinet sont facturées autour de 17 euros pour l'isolement et l'identification bactérienne, et autour de 15 euros pour l'antibiogramme (prix de la clinique de la Haute Auvergne à Saint Flour) (67). Et même si l'éleveur s'y retrouve par la suite avec une diminution des traitements, une meilleure guérison et moins de perte de lait, la facture du vétérinaire s'en trouve augmentée.

Le cabinet doit aussi réfléchir aux frais qu'engendre la mise en place de ce service. La dépense initiale à engager est de 300 euros à 500 euros en fonction de l'incubateur (68). A cela, il faut rajouter le prix des consommables : les géloses, les réactifs, les disques antibiotiques mais aussi les lames, les oses etc. Finalement, une analyse bactériologique simple coûte à la clinique entre deux euros pour l'identification d'un *Escherichia coli* et cinq euros pour l'identification d'un streptocoque. Il ne faut pas oublier le coût de formation des vétérinaires amenés à réaliser ces analyses. Enfin, il ne faut pas négliger la gestion des consommables pour éviter au maximum les péremptions. Par exemple, les géloses sont vendues par boîte de vingt, et leur péremption se limite à quelques mois (69).

## 2. Une formation indispensable des éleveurs et des vétérinaires

Pour mettre en place un service de qualité du lait en clinique vétérinaire, il est indispensable de former les éleveurs à l'importance de ces analyses. Les vétérinaires peuvent proposer des formations à la clinique pour leur présenter les analyses réalisables, les intérêts qu'ils en tirent pour leur élevage, mais aussi présenter la méthode de prélèvement pour éviter les contaminations, les éleveurs étant souvent amenés à prélever les échantillons eux-mêmes. Ces formations sont chronophages pour les vétérinaires, et demandent de l'investissement personnel.

Les vétérinaires doivent aussi se former à la réalisation des analyses bactériologiques ainsi que des antibiogrammes. Pour cela, ils peuvent participer à des formations proposées par la SNGTV par exemple. Ces formations se déroulent sur une journée pour un prix d'environ 340 euros hors taxe si la clinique est adhérente à la SNGTV (70). Il est aussi important de continuer une formation continue sur la qualité du lait et de se renseigner sur les publications récentes sur le traitement des mammites. Enfin, il est très utile pour le praticien de réaliser régulièrement des analyses pour continuer à se former et se perfectionner.

### 3. Interprétation des résultats

#### a) *L'obtention de résultats exploitables*

Pour obtenir des résultats exploitables des **analyses bactériologiques** et des **antibiogrammes**, il est indispensable que le prélèvement ait été effectué correctement pour éviter toute contamination. De plus, la détermination du genre bactérien nécessite de la pratique et de la rigueur. Un vétérinaire en cabinet doit réaliser couramment des analyses bactériologiques s'il veut apprendre à faire de bonnes interprétations de ces différentes analyses.

#### b) *La validité et l'interprétation de ces résultats*

Concernant la **détermination du genre bactérien**, la principale difficulté réside dans l'expérience du vétérinaire car la détermination du genre peut parfois être complexe et nécessite de la pratique pour obtenir un résultat précis et valide.

Concernant l'interprétation de l'**antibiogramme**, la principale difficulté vient de l'extrapolation des résultats de sensibilités *in vitro* à une application *in vivo*. Tout d'abord, il faut souligner le fait que les concentrations critiques permettant de caractériser la résistance ou non d'une souche sont issues des données de la santé humaine. De plus, l'interprétation d'un antibiogramme n'a de sens que pour des traitements par voie générale. Il est admis que l'utilisation de la voie locale permet de dépasser les résistances observées *in vitro* par l'antibiogramme (71). Par ailleurs, l'activité des antibiotiques peut être modifiée par la composition du lait, différente de celle du plasma. Le Tableau XIII **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** présente les résultats d'une étude ayant pour objectif de déterminer *in vitro* les CMI en bouillon Mueller-Hinton et dans le lait. Le lait utilisé est un lait demi-écrémé du commerce. Nous remarquons qu'à l'exception des bêta-lactamines, les autres antibiotiques présentent une baisse importante de leur activité dans le lait. L'interprétation des sensibilités déterminées à l'aide de ces CMI paraît donc compliquée pour les antibiotiques dont la CMI dans le lait est fortement augmentée (72).

Tableau XIII : Résultats des CMI en bouillon Mueller-Hinton et dans le lait (72)

Antibiotique	CMI BMH (mg/l)	CMI lait (mg/l)	Facteur multiplicateur
Pénicilline	0,125	0,125	1
Cloxacilline	2	2	1
AMC (ratio 2/1)	0,125/0.06	0,125/0.06	1
Céfalexine	1	1	1
Céfapirine	0,25	0,5	2
Néomycine	32	256	8
Kanamycine	128	128	1
Tylosine	0,25	1	4
Lincomycine	0,125	0,5	4
Rifaximine	0,5	2	4
Tétracycline	0,25	1	4
TMP-S (ratio 1/19)	0,25/4,75	0,25/4,75	1
Bacitracine	1	32	32

Cependant, il a été montré que lors d'utilisation de spécialités intra-mammaires, la concentration en antibiotiques dans le lait peut être entre dix à cent fois plus importante que lors d'injections systémiques (73). Il ne faut néanmoins pas oublier l'importante variabilité inter-individuelle concernant la répartition des molécules antibiotiques lors d'utilisation d'intra-mammaires (74).

Finalement, pour pouvoir utiliser les résultats d'antibiogrammes obtenus *in vitro*, il faudrait pour mettre en place un schéma thérapeutique :

- Des données de CMI propres aux pathogènes mammaires,
- La détermination de la concentration réellement atteinte dans le lait pour laquelle le germe est sensible à l'antibiotique,
- Des résultats terrain qui valident ces concentrations en termes de guérison clinique et bactériologique.

Concernant les spécialités intra-mammaires, nous n'avons ces informations que pour le ceftiofur, la pirlimycine et l'association pénicilline-novobiocine. Les études illustrant une concordance entre les résultats d'antibiogrammes et la guérison portent sur des antibiotiques administrés par voie parentérale (71).

Il est donc difficile d'extrapoler des résultats d'antibiogrammes pour la mise en place d'un schéma thérapeutique dans la plupart des cas, du fait des différences de milieux et de modalités d'administration des antibiotiques. Il semble plus prudent de se servir des résultats de l'antibiogramme pour expliquer que lors de la mise en évidence d'une résistance *in vitro*, la probabilité d'échec thérapeutique est accrue lors de l'utilisation d'un antibiotique par voie

générale. Une sensibilité *in vitro* n'est, quant à elle, pas une garantie d'un succès thérapeutique (75).

## II. La mise en place des analyses : comment faire en pratique

### A. L'échantillon de lait

L'échantillon de lait peut être prélevé par le vétérinaire ou l'éleveur. C'est un geste simple mais qui doit être réalisé proprement et rapidement, pour éviter les contaminations.

#### 1. Le matériel nécessaire (d'après (76))

Le matériel nécessaire au prélèvement est le suivant :

- Des pots de prélèvements stériles
- Des gants d'exams
- Une lingette désinfectante
- Du papier absorbant
- Un feutre indélébile.

Pour la conservation des échantillons, il faudra :

- Une glacière avec des pains de glace
- Un frigidaire réglé à 4°C
- Un congélateur réglé à -20°C.

Les consommables utilisés pour le prélèvement de lait sont peu coûteux. Il faut compter environ quarante centimes pour un pot de prélèvement stérile, les lingettes désinfectantes sont régulièrement offertes par les laboratoires pharmaceutiques aux cliniques vétérinaires et le reste du matériel peut être fourni par l'éleveur.

#### 2. La réalisation du prélèvement (d'après (76))

Les quartiers à prélever sont ceux atteints de mammite. Il est possible de vérifier avant de réaliser le prélèvement que le quartier n'est pas sain, avec un CMT par exemple.

Avant de réaliser le prélèvement, il faut commencer par nettoyer la mamelle, puis désinfecter le trayon avec une lingette dédiée, en insistant sur le sphincter.

Pour la réalisation du prélèvement, les premiers jets doivent être éliminés. Le pot stérile doit être tenu horizontalement avec le bouchon protégeant des contaminations éventuelles. Il suffit de tirer deux à trois jets dans le pot de prélèvement avant de le refermer immédiatement.

Une fois le prélèvement effectué, il ne reste plus qu'à indiquer le numéro de l'animal, le quartier prélevé ainsi que la date de prélèvement.

Il existe des fiches explicatives (annexe 1) sur le prélèvement aseptique du lait à destination des éleveurs, développées par le laboratoire Boehringer Ingelheim.

### 3. La conservation du prélèvement (d'après (77))

Une fois le prélèvement réalisé, l'échantillon doit être placé au froid pour éviter la potentielle prolifération d'agents pathogènes provenant de contaminations. Les analyses peuvent être réalisées immédiatement après prélèvement ou en différé. La conservation de l'échantillon ne sera pas la même en fonction de ces différents cas.

Si l'analyse est réalisée dans les 48 à 72 heures suivant la collecte, l'échantillon n'a pas besoin d'être congelé. Cependant, il doit être placé au frais, à une température proche de quatre degrés Celsius.

Si l'analyse est réalisée ultérieurement, une congélation à -20 degrés Celsius est nécessaire. L'échantillon peut ainsi être gardé jusqu'à un mois. Un ajout de 10% de glycérol à l'échantillon de lait permet une meilleure survie des bactéries à la congélation pour toutes les espèces.

## B. Identifier l'espèce pathogène responsable de la mammite

### 1. La méthode de référence : utilisation de milieux sélectifs (78)

#### a) Principe

Cette méthode a été développée par la SNGTV et notamment par le Docteur Van de Leemput. C'est une méthode qui se base sur l'utilisation de milieux sélectifs et permet de mettre en évidence les principaux pathogènes responsables de mammites bovines, cela en 24 heures. C'est la méthode la plus couramment utilisée en clinique vétérinaire.

#### b) Matériel et coût

Cette méthode nécessite l'utilisation d'un incubateur à CO<sub>2</sub> ainsi que d'un microscope. Concernant les consommables, il faudra :

- ❖ Une gélose non sélective au sang (COS) ;
- ❖ Une gélose sélective au sang de mouton, polymyxines et acide nalixinique (CNA) ;
- ❖ Une gélose Hektoen ;
- ❖ Des oses à usage unique.

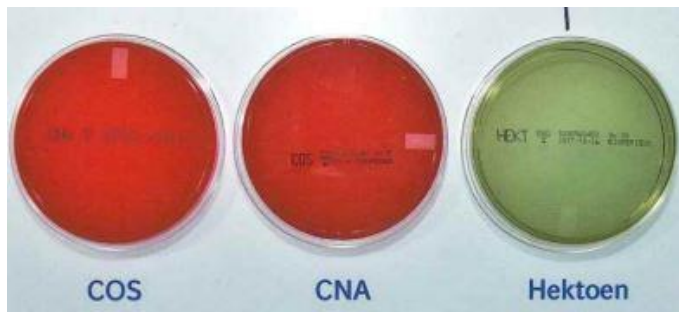


Figure 10 : Les trois types de géloses nécessaire à la réalisation de l'analyse (79)



Figure 11 : oses à usage unique (photographie personnelle)

Pour la différenciation des colonies bactériennes, il sera nécessaire d'avoir :

- ❖ De l'eau oxygénée ;
- ❖ Un test coagulase, commercialisé par Biomérieux (Slidex Staph® Plus) ;
- ❖ Un tube avec de la gélose à esculine ;
- ❖ Un test d'agglutination de Lancefield, commercialisé par Biomérieux (Slidex Streptokit®) ;
- ❖ Une gélose CPSO ;

❖ Un tube avec de la gélose Kigler.

A cela peut se rajouter le nécessaire à la réalisation d'une coloration de Gram, qui est d'une aide précieuse pour la détermination de certains pathogènes.

Concernant les coûts de l'analyse, l'achat initial de l'incubateur à CO<sub>2</sub> est d'environ 250 à 500 euros. En fonction de la bactérie identifiée, le prix pour le vétérinaire peut varier de deux euros à cinq euros, ces variations étant liées au nombre de tests biochimiques à réaliser. Le prix de l'incubateur est donc rapidement amorti si l'analyse est facturée entre quinze à vingt euros. Cela est donc plutôt rentable pour le vétérinaire (79).

### c) *La réalisation de l'analyse*

Pour réaliser cette méthode, il faut suivre plusieurs étapes qui vont être décrites ci-dessous.

#### ➔ **L'ensemencement des géloses**

Les trois géloses (COS, CNA et Hektoen) doivent être ensemencées avec chacune 30 µL de lait. Pour cela, les géloses doivent être ramenées à 37°C dans l'étuve, puis il faut déposer trois oses de lait sur chaque gélose, avec une ose stérile différente par gélose. Le lait doit ensuite être répartie sur les géloses de manière homogène. Après avoir identifié les géloses, celles-ci sont placées dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

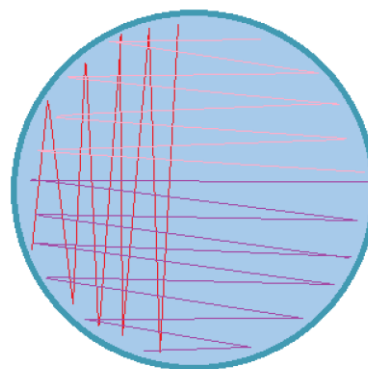


Figure 12 : ensemencement en trois directions  
(illustration personnelle)

#### ➔ **Vérification de la qualité du prélèvement et détermination du Gram**

Il faut tout d'abord vérifier avec la gélose non sélective COS le nombre de types de colonies présentes sur la gélose. En cas d'absence de pousse, le prélèvement peut être stérile ou la bactérie pas assez présente dans l'échantillon pour pousser en 24 heures. Certaines bactéries spécifiques ne poussent pas dans des conditions de culture aérobie. Si on observe un seul type de colonie, le pathogène observé est responsable de la mammite. En cas de deux types de colonies, l'infection est probablement mixte. A partir de trois types de colonies, ou si on observe des moisissures, le prélèvement est très certainement contaminé, et donc la gélose n'est pas interprétable.

Ensuite, si le prélèvement est valide, pour déterminer le Gram de la ou des bactéries, il



faut s'intéresser aux deux autres géloses. Si des colonies sont présentes sur la gélose CNA, alors on retrouvera des bactéries Gram positif. A l'inverse, une pousse sur la gélose Hektoen témoigne de la présence de bactéries Gram négatif. Il faut cependant se méfier des levures, qui poussent sur la gélose CNA.

### → Identification des Gram positifs

#### ❖ *Test à la catalase*

Le test à la catalase permet de déterminer si la bactérie est un staphylocoque. Pour cela, il faut prélever quelques colonies à l'aide d'un ose stérile, et les mettre en contact avec de l'eau oxygénée à 30% sur une lame de microscope. Si un dégagement gazeux se produit, le test est positif et donc la bactérie est catalase positive.

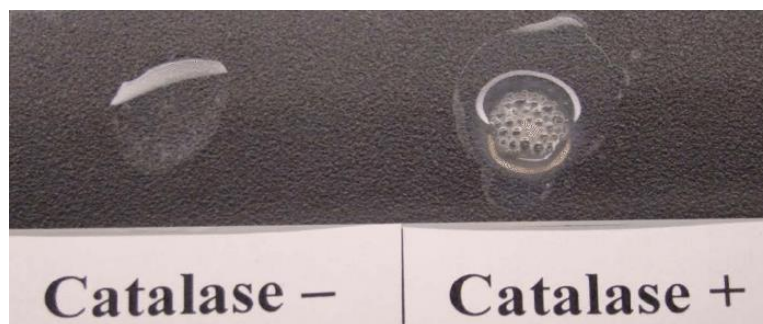


Figure 13 : test à la catalase (78)

#### ❖ *Si catalase positive : test à la coagulase*

En cas de test à la catalase positive, on sait qu'on se trouve probablement face à un staphylocoque. Pour pouvoir déterminer si c'est un *Staphylococcus aureus*, il est nécessaire de réaliser un test à la coagulase. Pour cela, il faut mettre en contact quelques colonies avec le réactif spécifique qui permet de la détection simultanée du facteur d'affinité pour le fibrinogène, de la protéine A et des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*. Le

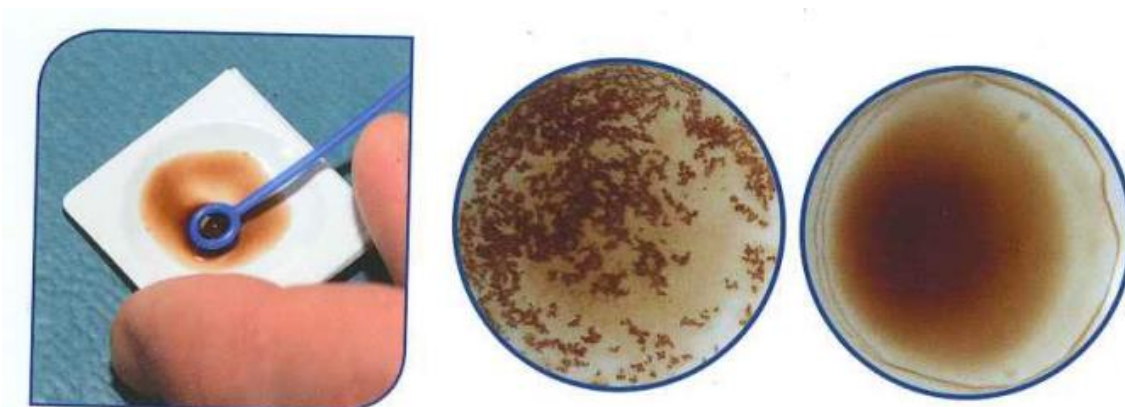


Figure 14 : test à la coagulase (78)

test est positif si on obtient en quelques secondes une agglutination franche et massive.

Si le test est positif, la bactérie étudiée est un *Staphylococcus aureus*. En présence de *Staphylococcus aureus*, on peut parfois observer une double hémolyse sur gélose au sang. L'hémolyse beta est complète alors que l'hémolyse alpha est incomplète.

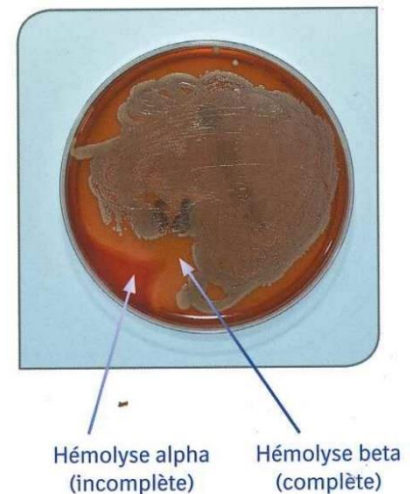


Figure 15 : observation de l'hémolyse de *S.aureus* (78)

Si le test est négatif, la bactérie étudiée peut soit faire partie de la famille des staphylocoques à coagulase négative, soit être un *Corynebacterium bovis*. Pour les différencier, une coloration de gram est nécessaire. En effet, à la coloration, les *Corynebacterium bovis* présentent une forme de virgule à l'inverse des staphylocoques qui sont des coques donc sont visibles sous la forme de points.

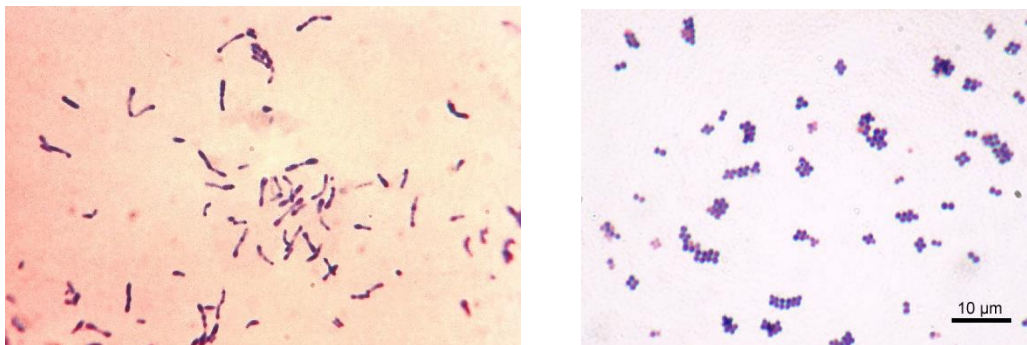


Figure 16 : observation respective de *Corynebacterium* (à gauche) et de *Staphylococcus* (à droite) au microscope à l'huile à immersion (Clinique de la Haute Auvergne)

#### ❖ En cas de catalase négative : test à l'esculine

Si le test à la catalase est négatif, il est alors nécessaire d'ensemencer une gélose à l'esculine. Pour cela, il faut prélever une colonie sur la gélose ANC et la plonger dans le tube de la gélose à esculine. Le tube à esculine est placé à intuber à 37°C pendant deux à huit heures. Si la gélose vire au noir au bout du temps d'incubation alors le test est positif, l'esculine

a été hydrolysée. Un test à l'esculine positif révèle un *Streptococcus uberis*.

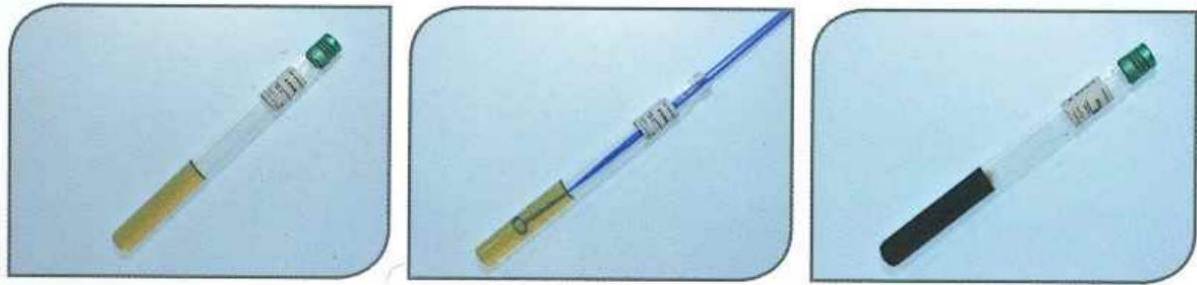


Figure 17 : ensemencement de la gélose à esculine et test positif (78)

#### ❖ En cas de test à l'esculine négatif : test de Lancefield

En cas de test à l'esculine négatif, on réalise un test d'agglutination de Lancefield. Pour cela, on dilue cinq à dix colonies prélevées sur la gélose COS ou CNA dans 0,4mL d'enzyme d'extraction. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante ou 10 minutes à 37°C, on dépose 40µL de solution sur les six cercles de la carte d'agglutination. On dépose une goutte de chaque réactif sur les cercles, puis on mélange à l'aide d'un bâtonnet mélangeur, en changeant le bâtonnet à chaque cercle. On observe ensuite au bout d'une minute si une agglutination est apparue et dans quel cercle : la réaction est alors considérée positive.



Figure 18 : agglutination au test de Lancefield (78)

L'interprétation d'un test de Lancefield positif peut se faire à l'aide du *Erreur ! Source du renvoi introuvable..*

Tableau XIV : bactérie identifiée à l'aide du test de Lancefield

Test de Lancefield positif au groupe	Bactérie identifiée
<b>B</b>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<b>C</b>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<b>D</b>	<i>Streptococcus bovis</i> / entérocoque
<b>F</b>	Autre espèce de streptocoque
<b>G</b>	<i>Trueperella pyogènes</i>

En cas de Lancefield négatif, on suspecte la présence de *Trueperella pyogenes* ou de *Lactococcus sp.* A la coloration de Gram, *Trueperella pyogenes* présente une forme caractéristique de virgule.

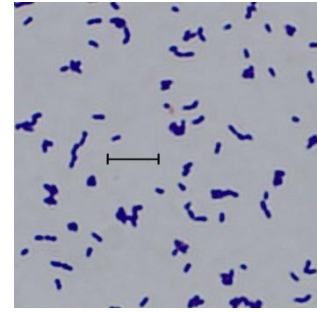


Figure 19 : *Trueperella pyogenes* observée au microscope en coloration de Gram (Clinique de la Haute Auvergne)

### → Identification des Gram négatifs

Pour l'identification des bactéries Gram négatif, il est nécessaire d'ensemencer une gélose CPSO ainsi qu'une gélose Kligler, pour pouvoir faire une interprétation croisée des trois géloses : CPSO, Kligler et Hektoen.

La gélose CPSO s'ensemence de la même manière qu'une gélose COS, CNA ou Hektoen, et se lit au bout de 4 heures d'incubation à 37°C. Concernant la gélose Kligler, elle se présente sous forme de tube. Il faut tout d'abord prélever quelques colonies sur la gélose COS. Ensuite, il faut ensemencer ces colonies sur la zone en pente du tube, puis inoculer des colonies en enfonçant l'ose à travers la gélose. La lecture se fait après 20 heures d'incubation à 37°C.

L'interprétation de ces géloses se fait de la manière suivante :

- Concernant la **gélose CPSO**, si les colonies poussent bleues, alors on suspecte *Klebsiella sp* ou *Serratia sp*. Si les colonies poussent roses, on se trouve face à un *Escherichia coli*. Si elles apparaissent jaunes, alors cela peut être *Pseudomonas sp* ou *Proteus sp*.
- Concernant la **gélose Hektoen**, des colonies jaunes ou saumon témoignent de la présence d'*Escherichia coli*, *Klebsiella sp* ou *Serratia sp*. Des colonies bleues ou vertes témoignent de la présence de *Proteus sp*, *Pseudomonas sp* ou *Salmonella sp*.
- Concernant la **gélose Kligler**, si la gélose est entièrement jaune, on a *Escherichia coli* ou *Klebsiella sp*. Si la gélose est entièrement rouge, la bactérie en cause est *Pseudomonas sp*. Si la gélose est jaune et rouge, la bactérie est *Serratia sp*. En cas de gélose jaune et rouge avec un liseré noir entre les deux (qui témoigne d'une production d' $H_2S$ ), la bactérie responsable est *Proteus sp*.

Il suffit ensuite de croiser les informations apportées par chaque gélose.

Tableau XV : identification de la bactérie en fonction de la couleur de la gélose Kligler et des colonies sur les géloses CPSO et Hektoen

CPSO	Hektoen	Kigler	Diagnostic
Rose	Jaune/saumon	Jaune	<i>Escherichia coli</i>
Bleu	Jaune/saumon	Jaune	<i>Klebsiella sp</i>
Bleu	Jaune/saumon	Jaune + rouge	<i>Serratia sp</i>
Jaune	Bleue/verte	Rouge	<i>Pseudomonas sp</i>
Jaune	Bleue/verte	Jaune + rouge, liseré noir	<i>Proteus sp</i>

➔ Récapitulatif de la méthode

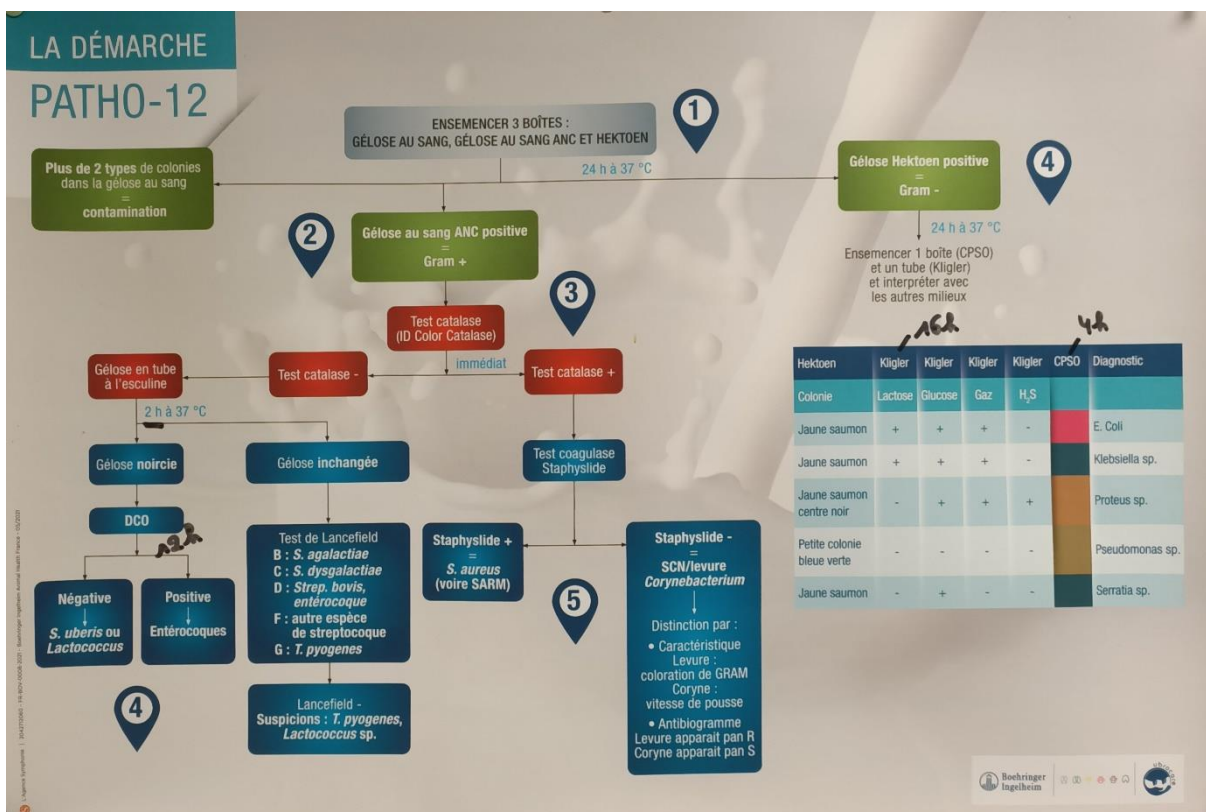


Figure 20 : Récapitulatif de la démarche à suivre pour l'identification du pathogène responsable de la mammite étudiée (source : Boehringer Ingelheim)

d) Bilan sur la méthode

Cette méthode a l'avantage d'être rapide, autant dans les manipulations qu'elle nécessite (ensemencement et lecture), que dans le temps d'incubation nécessaire à la pousse des bactéries. Malgré un investissement important lors de la mise en place du laboratoire de bactériologie, un nombre raisonnable d'analyses permet de rentabiliser rapidement le

matériel. Cette méthode est facile à mettre en place. L'utilisation d'une gélose non sélective permet d'une part de facilement repérer les contaminations, et d'autre part de réaliser des antibiogrammes selon la norme AFNOR NF 47-107.

La principale limite de cette méthode réside dans les imprécisions de lecture. En effet, un vétérinaire non formé et non entraîné peut commettre des erreurs dans la détermination du genre bactérien. Cette méthode requiert une formation et une aisance de l'opérateur. De plus, dans une clinique réalisant rarement des analyses bactériologiques, les géloses peuvent atteindre leur date de péremption avant d'avoir été utilisées.

## 2. Les géloses pluri compartimentées

### a) Principe

Les géloses compartimentées permettent de faciliter les manipulations au cabinet. Les manipulations effectuées se rapprochent de celles de la méthode de référence développée par la SNGTV et présentée précédemment. Il existe des géloses à deux, à trois et à quatre compartiments. Chaque compartiment doit être ensemencé avec dix microlitres de lait. La gélose est ensuite passée à l'étuve pendant 24 à 48 heures avant lecture. L'identification bactérienne se fait en observant la pousse ou non de colonies bactériennes, et leur aspect. Le coût de ces géloses varie entre 8 et 12 euros par gélose. Certaines sont disponibles en centrale vétérinaire, alors que d'autres ne peuvent se commander qu'auprès du laboratoire qui les produit, telles que les biplates CPS/CNA qui ne sont disponibles que chez Biomérieux (80). La sensibilité de ces tests est variable, la spécificité est supérieure à 90% (80).

### b) Exemple des géloses triplates type Vetorapid®

La gélose Vetorapid®, commercialisée par le laboratoire Vetoquinol, est communément employée dans les cabinets vétérinaires en France. Elle comporte trois compartiments (80) :

- ❖ Une gélose sélective des bactéries à Gram négatif ;
- ❖ Une gélose sélective des staphylocoques ;



Figure 21 : présentation des kits de gélose Vetorapid® (Vetoquinol)

❖ Une gélose sélective des streptocoques.

Après 24 heures à 37 degrés celsius, il est possible de déterminer selon l'aspect des colonies si l'échantillon est contaminé avec *Staphylococcus aureus*, un staphylocoque à coagulase négative, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* ou *Klebsiella spp.* Il est cependant difficile d'identifier *Trueperella sp*, *Bacillus sp*, *Corynebacterium sp* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les mycoplasmes et les pasteurelles ne sont pas identifiables avec ce kit (81).

Tableau XVI : lecture de la gélose VetoRapid® (d'après (82))

Milieu	Couleur des colonies	Couleur du gel	Nature de la bactérie
Sélectif des bactéries Gram -	Bleu foncé ; bleu-vert		<i>Escherichia coli</i>
	Rouge-violet		Autres coliformes (ex : <i>Klebsiella</i> )
Sélectif des staphylocoques	Jaune doré	Doré	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Pâle	Pas de changements	Staphylocoques à coagulase négative
Sélectif des streptocoques	Noir	Noir	Streptocoques hydrolysant l'esculine Ex : <i>Streptococcus uberis</i>
	Pâle	Rouge-marron	Streptocoques n'hydrolysant pas l'esculine Ex : <i>Streptococcus agalactiae</i>

c) Exemple des géloses chromogéniques type CPS/CNA de Biomérieux (d'après (83))

Les géloses ChromID® CPS® Elite sont des géloses à deux compartiments développées par le laboratoire Biomérieux. Elles ont été initialement conçues pour la détection des germes d'infection urinaire en médecine humaine. Ces géloses sont constituées d'un compartiment comprenant :

- ❖ un milieu Columbia CNA enrichie au sang de mouton permettant la croissance des bactéries Gram positif ;
- ❖ un milieu chromogénique qui permet une identification présomptive des bactéries (détection des activités enzymatiques  $\beta$ -glucuronidase,  $\beta$ -galactosidase et  $\beta$ -glucosidase).

La lecture de la gélose se fait après une incubation de 24 heures à 35 degrés Celsius. Il est

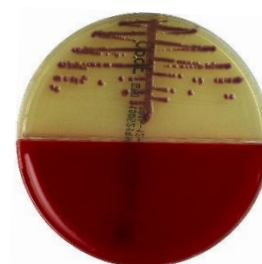


Figure 22 : gélose ChromID® CPS® Elite (83)

d'abord nécessaire de déterminer si la bactérie est gram positif (les deux compartiments contiennent des colonies) ou gram négatif si seul le milieu chromogénique contient des colonies. La détermination de l'espèce se fait ensuite en observant la couleur des colonies et en réalisant des tests complémentaires.

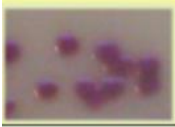
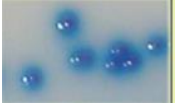




Bactérie identifiée	Couleur des colonies
<i>E. coli</i>	 Bordeaux
<i>Streptococcus uberis</i>	 Bleu
Staphylocoque à coagulase négative	 Jaune ou blanche
Staphylocoque à coagulase positive	 Blanche
<i>Enterococcus sp</i>	 Verte
<i>Serratia marcescens</i>	 Bleu-vert

Figure 23 : détermination de l'espèce bactérienne (Biomérieux)

#### d) Bilan

Le principal avantage des géloses multi compartimentés est leur simplicité d'utilisation et leur praticité d'utilisation : une seule gélose à se procurer et à stocker. De plus, elles permettent d'identifier les principales espèces bactériennes pathogènes. Cependant, leur lecture n'est pas toujours évidente et demande de l'expérience. De plus, certaines bactéries plus rares sont difficilement identifiables par ces géloses (80). Enfin, des études de



concordance entre les résultats des géloses multi compartimentés et d'autres méthodes de référence (Maldi Tof ou la méthode Patho-12) montrent que les non-concordances restent élevées, principalement concernant la non-détection des échantillons contaminés (84).

### 3. Les tests rapides

Les tests d'identification rapides ont été développés en priorité pour un usage en ferme par l'éleveur. Ils permettent de déterminer si l'échantillon étudié est stérile ou, s'il contient des bactéries, d'en déterminer le Gram. Ces tests nécessitent un incubateur à CO<sub>2</sub>, ce qui peut freiner leur utilisation en ferme car cela représente un budget de plusieurs centaines d'euros pour l'éleveur. Il semblerait envisageable d'utiliser un même incubateur à CO<sub>2</sub> pour plusieurs élevages, qu'il appartienne à une coopérative ou encore à une clinique vétérinaire (80).

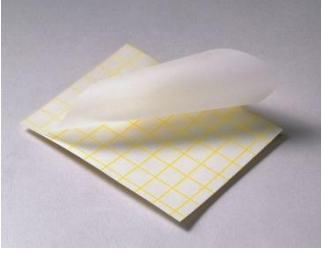


#### a) *Petrifilm*<sup>®</sup>

Le pétrifilm<sup>®</sup> est un test issu de l'industrie agro-alimentaire, utilisé originalement pour dénombrer les germes responsables de toxi-infections alimentaires et pour évaluer la qualité microbiologique de l'environnement. Cela fait une vingtaine d'années qu'il est utilisé dans l'analyse du lait de mammite. Le principe du test est de décompter les colonies bactériennes après croissance sur des plaques contenant des milieux nutritifs ainsi que des agents inhibiteurs ou sélectifs en fonction des espèces bactériennes à mettre en évidence. Ce test est à destination des éleveurs, pour l'analyse de mammites cliniques non sévères (85). La sensibilité de ce test varie entre 70,7% et 85,4%. Sa spécificité varie entre 65,3% et 90,3% (80).

Pour la réalisation de ce test, il est nécessaire de réaliser un prélèvement de lait en évitant toute contamination. Il faudra aussi de l'eau distillée, des seringues, des tubes d'échantillonnage stériles et un incubateur à CO<sub>2</sub>. Concernant les plaques de Petrifilm<sup>®</sup>, trois sont utilisées :

- ❖ Petrifilm aerobic Count Plate (AC), qui prouve une présence bactérienne aérobie dans l'échantillon ;
- ❖ Petrifilm Coliform Count (CC), qui permet la numération des coliformes ;
- ❖ Petrifilm Staph Express (STX), qui témoigne de la présence de *Staphylococcus aureus* dans l'échantillon.

Tableau XVII : Les différentes plaques Petrifilm® utilisables

Plaque AC	Plaque CC	Plaque STX
		

Les plaques de Pétrifilm® sont à conserver à l'abri de l'humidité et de la lumière du soleil, au réfrigérateur. Il est important de ne pas toucher la surface de la plaque pour éviter les contaminations (79).

Le milieu d'ensemencement est préparé dans un tube stérile à l'aide de 9 millilitres d'eau distillée ou de sérum physiologique et 1 millilitre de lait. Après homogénéisation, un millilitre de la solution doit être déposé au centre de chaque plaque puis réparti sur l'ensemble de la plaque à l'aide d'un applicateur spécifique. Les disques sont ensuite disposés dans l'incubateur à CO<sub>2</sub> à 35 degrés celsius pendant vingt-quatre heures. Pour lire les plaques, il faut dénombrer les colonies (points de couleur) sur l'entièreté de chaque plaque (80).

Le Pétrifilm® est facile d'utilisation pour l'éleveur, ne demande que peu de matériel spécifique et est peu onéreux : une plaque coûte environ 1,50 euros. Cependant, il n'est pas possible de déterminer si l'échantillon est contaminé ou bien si l'infection est mixte. De plus, il ne permet pas d'identifier les streptocoques ni de donner une identification précise des agents pathogènes, en dehors de *Staphylococcus aureus* (81).

a) *Mastadecide®*

Le mastdecide® est un test rapide développé en Allemagne à destination des éleveurs pour aider au diagnostic des mammites cliniques non sévères. Il a pour but d'indiquer si l'échantillon étudié contient des bactéries, et si oui quel est leur gram. Il est possible de se procurer des kits contenant dix tests, dont la péremption est de neuf mois. Le coût du test revient à une dizaine d'euros (81). La sensibilité de ce test varie entre 48,8% et 58,8%. Sa spécificité varie entre 77,4% et 90,3% (80).



Figure 24 : kit Mastdecide®

Pour réaliser ce test, il fautensemencer deux tubes avec 0.1 millilitre de lait, puis les placer à l'incubateur à CO<sub>2</sub>. La lecture se fait en théorie quatorze heures après l'ensemencement, mais en réalité les résultats sont difficilement interprétables avant vingt-quatre heures d'incubation (80). Pour lire les résultats, il faut procéder de la sorte :

- ❖ Les deux tubes sont restés roses, alors l'échantillon est stérile ;
- ❖ Le tube à bouchon blanc est devenu blanc, le tube à bouchon jaune est resté rose, alors l'échantillon contient des bactéries gram négatif ;
- ❖ Les deux tubes sont devenus blancs, alors l'échantillon contient des bactéries gram positif.

Ce test permet à l'éleveur de manière simple, rapide et peu coûteuse de savoir s'il doit procéder à une antibiothérapie en cas de bactéries gram positif ou s'abstenir dans les deux autres cas. Cependant, il a été montré que la lecture du test n'est pas si aisée et que les erreurs sont faciles, liées à l'appréciation personnelle du changement de couleur (80).

b) *Vetscan Mastigram+® (d'après (86))*

Le Vetscan Mastigram+® est un test rapide développé par le laboratoire Zoetis en 2023 et dont le déploiement sur le terrain a eu lieu en septembre 2023. Il est destiné à une utilisation éleveur en ferme via un réseau de distribution exclusivement vétérinaire. Le principe de ce test est de différencier les infections de la mamelle à Gram positif de celles à Gram négatif ou stérile, sur les mammites cliniques non sévères. Le résultat est obtenu en moins de huit heures.

Ce test détecte les bactéries Gram positives suivantes :

Tableau XVIII : Bactéries détectées par le Vetscan Mastigram®

Staphylocoques à coagulase positive	Staphylocoques à coagulase négative	Streptocoques	Autres
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Lactococcus sp.</i>
<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Aerococcus viridans</i>
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Bacillus sp.</i>
	<i>Staphylococcus simulans</i>	<i>Enterococcus sp</i>	<i>Trueperella sp.</i>
	<i>Staphylococcus xylosus</i>		

Les tests sont vendus par boîtes contenant dix bandelettes ainsi que dix milieux d'enrichissement. Ils peuvent être conservés au réfrigérateur jusqu'à douze mois.

Concernant la réalisation de l'analyse, elle est relativement aisée. Il est impératif que le lait ait été prélevé de manière stérile. Ensuite, un millilitre de lait est mélangé au milieu d'enrichissement puis incubé dans une étuve à 37 degrés Celsius pendant sept heures. Il faut ensuite insérer la bandelette du test dans le tube contenant l'échantillon. Le résultat est lisible en 10 minutes, le principe du test reposant sur la technique de migration latérale sur bandelette. La *Erreur ! Source du renvoi introuvable.* présente ce protocole.

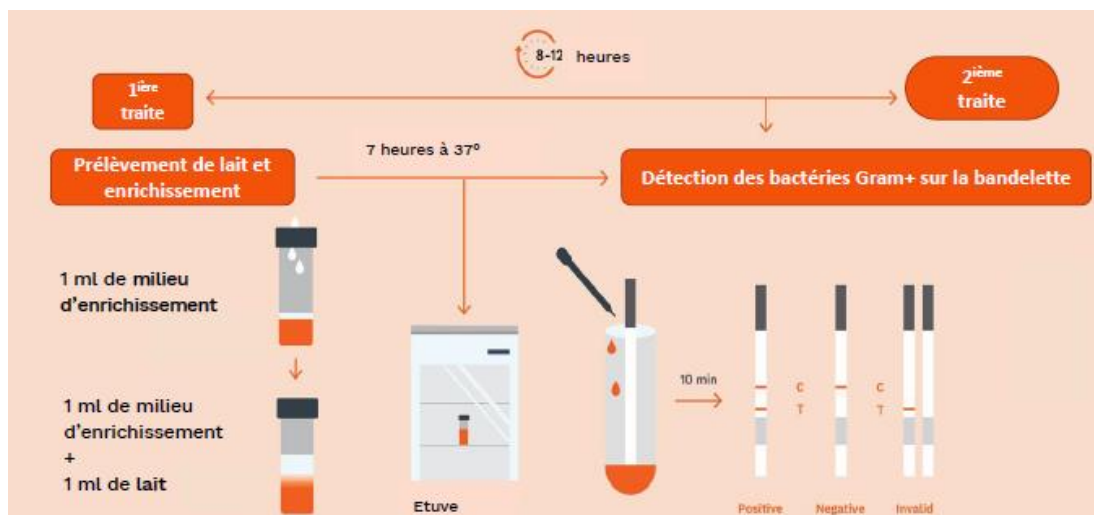


Figure 25 : réalisation du test Vetscan Mastigram® (d'après Zoetis®)

L'intérêt principal de ce test est la facilité de réalisation et la rapidité d'obtention du résultat. En accord avec les recommandations actuelles concernant la gestion des mammites non sévères, cela permet dans l'intervalle entre deux traites de savoir si un antibiotique est nécessaire à la guérison de la mammite ou si un anti-inflammatoire seul peut suffire. Cela

permet ainsi de réduire la quantité d'antibiotiques utilisée dans la gestion des mammites non sévères mais aussi de diminuer la quantité de lait jeté car une fois les signes cliniques disparus et le temps d'attente de l'anti-inflammatoire écoulé, le lait peut de nouveau être commercialisé. De plus, ce test est très fiable selon les premières études menées, avec une sensibilité de 99,1% et une spécificité de 100%. L'inconvénient principal réside dans la nécessité d'un incubateur à CO<sub>2</sub> pour l'obtention des résultats.

#### 4. Les automates

##### a) L'utilisation du Mastatest® de Vetoquinol

###### (1) Principe

Le Mastatest® est un automate commercialisé par le laboratoire Vetoquinol à destination des vétérinaires mais aussi des éleveurs depuis janvier 2022. Il a été développé et commercialisé dans un premier temps en Nouvelle Zélande, dans le but d'être utilisé dans les fermes (87). Cet outil permet d'identifier les principales bactéries responsables de mammites cliniques et de déterminer la sensibilité du germe identifié à trois antibiotiques. Le Mastatest® permet d'identifier les bactéries suivantes :

- ❖ *Escherichia coli* / autres Gram négatifs
- ❖ *Klebsiella spp* / *Serratia Spp*
- ❖ *Staphylococcus aureus*
- ❖ *Streptococcus uberis*
- ❖ Les Staphylocoques à coagulase négative
- ❖ *Streptococcus dysgalactiae* et spp
- ❖ Autres Gram positifs.

Actuellement sur le territoire français, une centaine de Mastatest® a été commercialisée avec une répartition globale sur le territoire. Les Mastatest® commercialisés sont à 90% utilisés en clinique vétérinaire, et 10% sont utilisés en ferme par des éleveurs. Ce test donne des résultats de sensibilité de 94,6% et de 72,1% de spécificité (80).

## (2) Matériel et coût

Pour réaliser une analyse avec le Mastatest®, il est nécessaire d'être en possession de :

- ❖ Un automate Mastatest®
- ❖ Les cartouches correspondantes
- ❖ Un échantillon de lait prélevé stérilement
- ❖ Des gants propres
- ❖ Une connexion internet et une alimentation électrique.

Les cartouches Mastatest® doivent être conservées entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière du soleil. La péremption des cassettes est d'environ 24 mois en sortie d'usine. Le prix de l'automate et de sa maintenance est d'environ 2000 euros, et une cartouche revient à légèrement moins de dix euros (80).

## (3) La réalisation de l'analyse

La réalisation de l'analyse de lait avec l'automate Mastatest® est relativement aisée et ne demande que peu de temps. Le lait à analyser doit être prélevé de manière à éviter les contaminations et stocké selon les recommandations évoquées précédemment. Il faut ensuite respecter des règles d'hygiène strictes pour éviter les contaminations lors de la manipulation des cartouches et de l'échantillon. Une fois la cartouche remplie et le test lancé, les résultats sont obtenus vingt-quatre heures après par courrier électronique (88).

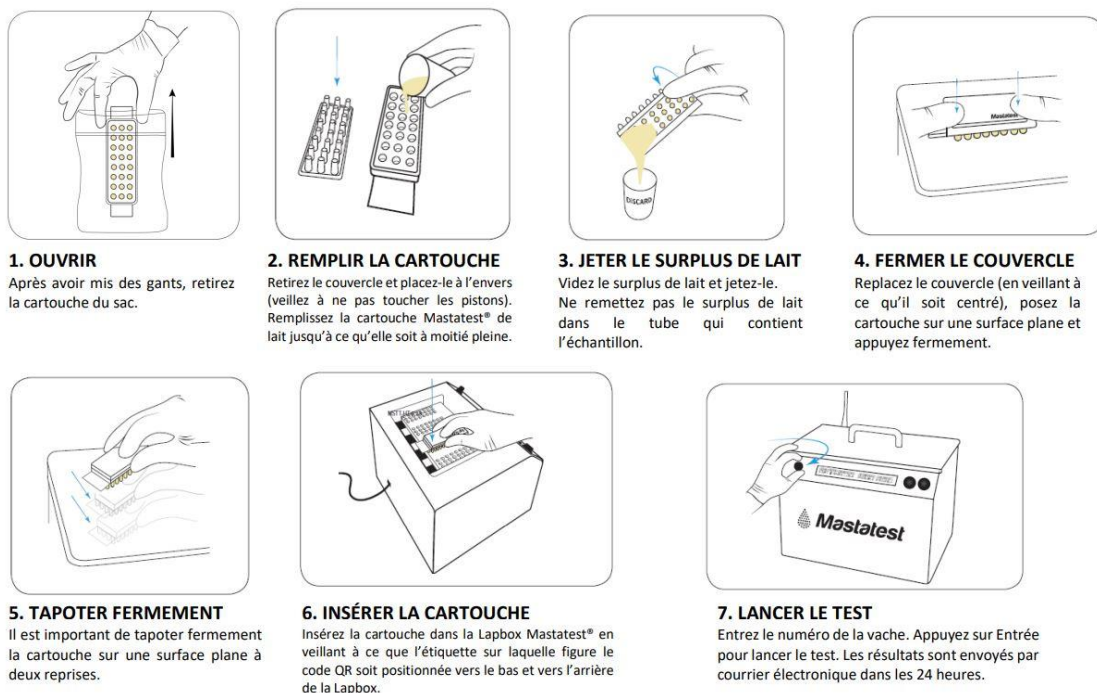


Figure 26 : étapes de la réalisation d'une analyse de lait avec l'automate Mastatest® (source Vetoquino)

#### (4) Avantages et inconvénients ((80))

Les avantages de cette méthode sont :

- ❖ Une facilité de réalisation de l'analyse qui peut être réalisée par l'éleveur lui-même au besoin, et une lecture qui ne nécessite pas de formation ni d'expérience en microbiologie ;
- ❖ Une péremption des cassettes peu importante du fait de leur longue durée de conservation ;
- ❖ Un résultat obtenu rapidement, en vingt-quatre heures ;
- ❖ Une correspondance de 91% quant à la détection du Gram de la bactérie par rapport à la méthode de référence.

Le principal inconvénient de cet automate est son manque de sensibilité dans la détection des prélèvements contaminés et de la nature exacte de la bactérie. En effet, par rapport à la méthode de référence utilisée à Saint Flour, la concordance bactérienne exacte n'est que de 55% et la correspondance au niveau du genre bactérien est de 67%.

#### b) Utilisation de la PCR multiplex

##### (1) Principe

Des kits de PCR Pathoproof® ont été développés par le laboratoire ThermoFisher Scientific pour permettre d'identifier précisément jusqu'à quinze des principaux agents pathogènes responsables de mammite ainsi que le gène de bêta-lactamase staphylococcique. Les bactéries qui peuvent être identifiées à travers cette analyse sont les suivantes :

- ❖ *Escherichia coli*
- ❖ *Klebsiella oxytoca/pneumoniae*
- ❖ *Staphylococcus aureus*
- ❖ *Staphylococcus spp*
- ❖ *Corynebacterium bovis*
- ❖ *Streptococcus uberis*

- ❖ *Streptococcus dysgalactiae*
- ❖ *Streptococcus agalactiae*
- ❖ *Enterococcus spp*
- ❖ *Arcanobacterium pyogenes / Peptoniphilis indolicus*
- ❖ *Serratia marescens*
- ❖ *Mycoplasma bovis*
- ❖ *Mycoplasma spp*
- ❖ *Levures*
- ❖ *Prototheca spp.*

Cette analyse se base sur la technologie PCR (Polymerase Chain Reaction) en temps réel qui permet d'identifier de manière précise et semi quantitative les bactéries présentes dans l'échantillon. L'échantillon de lait est soumis à un processus d'extraction qui permet de récupérer L'ADN des bactéries présentes dans l'échantillon pour ensuite les amplifier à l'aide des amorces incluses dans le kit. La quantité de bactéries présentes dans l'échantillon est indiquée de manière semi-quantitative à travers le nombre de cycles d'amplification nécessaires à l'obtention d'un nombre suffisant de copies du fragment d'ADN de la bactérie (89).

L'utilisation de la PCR est encore peu répandue en clinique vétérinaire en France et plutôt réservée aux laboratoires spécialisés.

## (2) Matériel nécessaire et réalisation de l'analyse

Pour réaliser cette analyse, il est nécessaire de posséder un automate permettant de réaliser des PCR en temps réel, un ordinateur connecté à cet automate, et bien évidemment les kits adaptés. Il est possible de commander les kits nécessaires à la réalisation de ces PCR sur le site internet du laboratoire. Les tests peuvent être commandés par 50 ou 384 (90).

L'analyse se déroule en deux étapes : la première correspondant à l'extraction de l'ADN et la deuxième à la réaction de la PCR. Ce processus prend environ quatre heures dont deux correspondent à des temps d'attente, et les deux autres à des manipulations de l'opérateur (89).



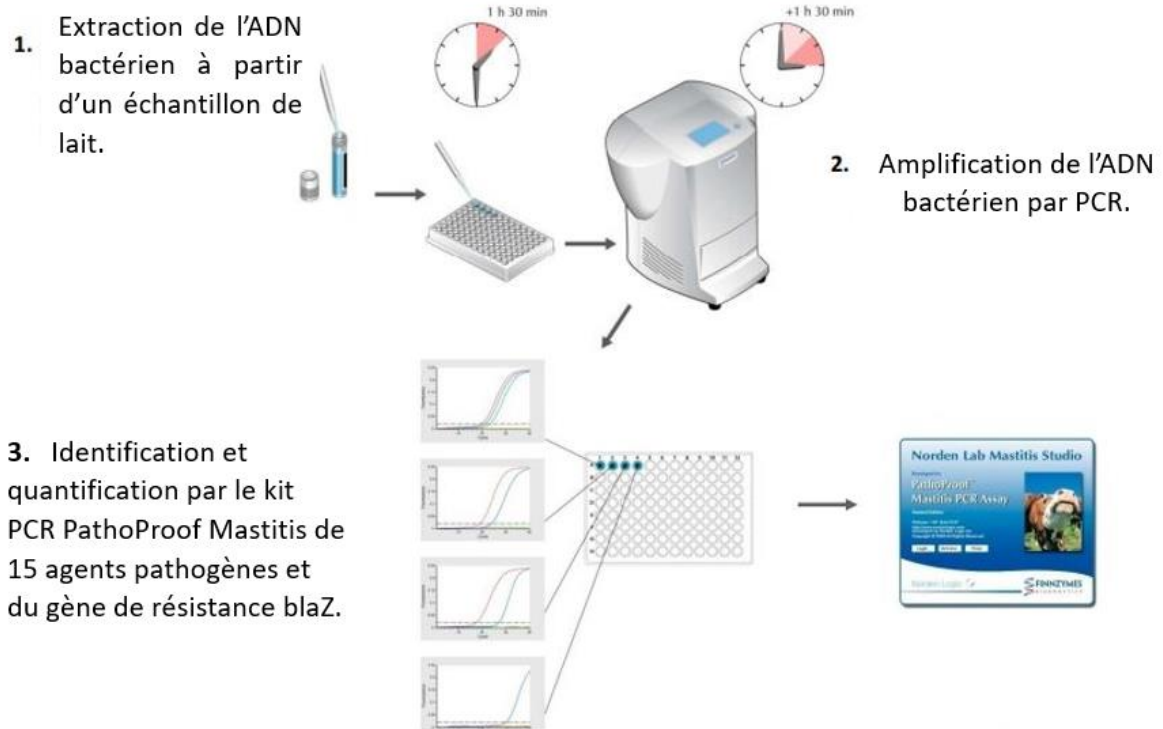


Figure 27 : réalisation de la PCR multiplex PathoProof®

### (3) Avantages et inconvénients

Les résultats de l'analyse bactérienne avec PathoProof® PCR sont obtenus en seulement quatre heures, contre au moins 24 heures pour une analyse bactériologique. Cette rapidité d'obtention des résultats, ainsi que la possibilité de lancer jusqu'à 22 analyses simultanément représente un réel avantage pour la PCR. Cependant, il est important de préciser que sur ces quatre heures, deux nécessitent une personne formée pour la préparation et le déroulé de l'analyse, contre environ cinq minutes pour une analyse bactériologique (89).

Concernant la sensibilité de la PCR PathoProof®, la fréquence d'identification bactérienne est nettement supérieure à la méthode conventionnelle de culture bactérienne : une étude de 2012 comparant les résultats obtenus à travers la méthode conventionnelle et la PCR montre que la PCR détecte un agent pathogène dans 70,6% des cas contre 32,2% des cas pour la culture sur géloses. De plus, la PCR a tendance à détecter plus régulièrement une poly-contamination (91). Du fait de cette grande sensibilité, il semble compliqué d'interpréter les résultats obtenus de manière individuelle. Cependant, la PCR présente son intérêt dans un suivi de troupeau, ce qui permet de mettre en avant des profils d'élevage lorsqu'une bactérie est retrouvée de multiples fois dans des échantillons différents (89).

5. Bilan : tableau récapitulatif des différents tests existants

Tableau XIX : les différents tests pour l'identification du genre bactérien, et leurs caractéristiques

Catégorie	Nom du test	Réalisation possible à la ferme ?	Matériel spécifique	Prix	Simplicité de lecture	Précision	Fiabilité	Remarque
Utilisation de milieux sélectifs	Méthode PATHO12	Non	- Etuve - Géloses - Réactifs	Correct	Correcte	Détermination du genre voire de l'espèce bactérienne.	Bonne	Demande de l'expérience pour ne pas commettre d'erreur lors de l'identification
	VetoRapid	Non	- Géloses - Étuve	Correct	Difficile	Détermination de certaines bactéries. Mycoplasmes et pasteurelles non identifiables.	Bonne	Praticité d'utilisation : une seule gélose.
	CPS/CNA	Non				Détermination de 4 espèces bactériennes et des staphylocoques.		
Tests rapides	Petrifilm	Oui	- Etuve à CO2 - Kits spécifiques	Peu couteux	Facile	Différenciation Gram-, Gram+ et <i>Staph. aureus</i> .	Correct	
	Mastdécode	Oui			Facile		Correct	Nuance entre les couleurs pas toujours évidente à percevoir.
	Mastigram	Oui			Très facile		Excellente	Résultat entre deux traites.
Automates	Mastatest	Oui	- Automate et cassettes	Élevé	Très facile	Différenciation entre 6 genres bactériens et les autres Gram+.	Correct	Bonne fiabilité concernant la détermination du Gram.
	PCR multiplex	Non	- Automate et kit		Très facile	Différenciation entre 16 espèces bactériennes.	Excellente	« Trop » sensible parfois

## C. Déterminer la sensibilité de la bactérie identifiée aux antibiotiques

### 1. La norme AFNOR

La liste des antibiotiques critiques et les normes reconnues pour la réalisation des antibiogrammes permettant leur prescription ont été fixées par l'arrêté du 18 mars 2016, paru au Journal Officiel de la République Française du 25 mars 2016. Ces antibiogrammes doivent suivre les normes AFNOR NF U47-106 et NF U47-107. La norme NF U47-106 décrit la détermination *in vitro* de la sensibilité des bactéries aux anti-infectieux par la méthode de dilution en milieu gélosé, mais elle n'est pas utilisée en clinique vétérinaire, à contrario de la norme NF U47-107 qui décrit la détermination *in vitro* de la sensibilité des bactéries aux anti-infectieux par la méthode de diffusion en milieu gélosé, couramment appelée « méthode des disques » (92).

Pour mettre en place cette technique en clinique, il suffit d'acquérir la norme sur la boutique internet de l'AFNOR pour une centaine d'euros. La « méthode des disques » sera décrite par la suite. Pour répondre à la norme AFNOR, trois critères sont indispensables (92) :

- ❖ Des autocontrôles réguliers doivent être effectués, leur rythme est à moduler en fonction du volume d'antibiogrammes réalisés au sein de la structure ;
- ❖ La suspension bactérienne doit être réalisée à partir d'une culture de 18 à 24 heures sur milieu gélosé non sélectif ;
- ❖ La suspension doit être ajustée à 0,5 par rapport au standard MacFarland.

### 2. La méthode de référence : la méthode des disques dite de Kirby-Bauer (93), (94)

#### a) Principe

La méthode des disques correspond à l'ensemencement d'une gélose Mueller-Hinton, parfois enrichie au sang, sur laquelle sont déposés des disques d'antibiotique. L'antibiotique, en diffusant à partir du disque, crée sur la gélose un gradient de concentration, ce qui permet, après un certain temps d'incubation, de déterminer une zone d'inhibition de la pousse bactérienne. Le diamètre de cette zone d'inhibition est ensuite comparé à des valeurs de référence, ce qui permet de définir le statut sensible, intermédiaire ou résistant de la souche bactérienne isolée.

Cette méthode est couramment utilisée en clinique. Cependant, pour qu'elle puisse

justifier l'utilisation d'un antibiotique critique, elle doit être réalisée en respectant la norme AFNOR NF U47-107, et en utilisant les valeurs de référence de la CA-FSM.

#### *b) Matériel et coût*

Cette méthode nécessite l'utilisation d'un incubateur à CO<sub>2</sub> à 35°C, précédemment utilisé pour la culture bactérienne. La souche bactérienne à tester doit être pure et avoir été obtenue sur un milieu non-sélectif après 18 à 24 heures d'incubation.

Concernant le matériel spécifique, il faudra :

- ❖ Un écouvillon stérile en coton ;
- ❖ Un tube à essai stérile ;
- ❖ Une gélose Mueller-Hinton simple ou enrichie au sang défibriné et au  $\beta$ -nicotinamide adénine dinucléotide ;
- ❖ Un étalon à 0,5 de la gamme de Mac Farland ainsi qu'un fond neutre (feuille à fond strié) ;
- ❖ Des disques imprégnés d'antibiotique ;
- ❖ Un pied à coulisse ou un décimètre.

Concernant les coûts de l'analyse, l'incubateur à CO<sub>2</sub> sert aussi aux diagnostics bactériologiques. Les boîtes Mueller-Hinton sont achetées entre 1,30 euros et 2 euros hors taxe. Quant aux disques antibiotiques, ils sont vendus par cartouche de 50 disques, une cartouche revenant à environ 10 euros hors taxe. Pour une gélose avec six disques antibiotiques, le prix des consommables revient à environ quatre euros de frais pour le vétérinaire.

#### *c) La réalisation de l'antibiogramme et sa lecture*

##### **➔ Préparation de la suspension bactérienne**

Pour préparer la suspension bactérienne, il faut prélever quelques colonies à l'aide d'un écouvillon en coton stérile. Ces colonies proviennent d'une culture en milieu non sélectif. Elles sont ensuite mises en suspension dans une solution saline stérile (NaCl 9%) et mélangées jusqu'à ce que la suspension présente une turbidité adéquate, c'est-à-dire équivalente à l'étalon 0,5 de la gamme de MacFarland.

### → Choix et inoculation de la gélose

Pour réaliser un antibiogramme de *Streptocoque* ou de *Corynebacterium spp*, qui sont des germes à croissance lente, il est recommandé d'utiliser un milieu Mueller-Hinton enrichi. Dans les autres cas, il est possible de se contenter d'un milieu standard Mueller-Hinton.

L'ensemencement des géloses doit se faire sur des géloses ramenées à température ambiante. Pour cela, il est possible de les placer quelques minutes dans l'étuve à 37°C. Il faut ensuite plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne, puis réaliser un écouvillonnage dans trois directions, de manière homogène.

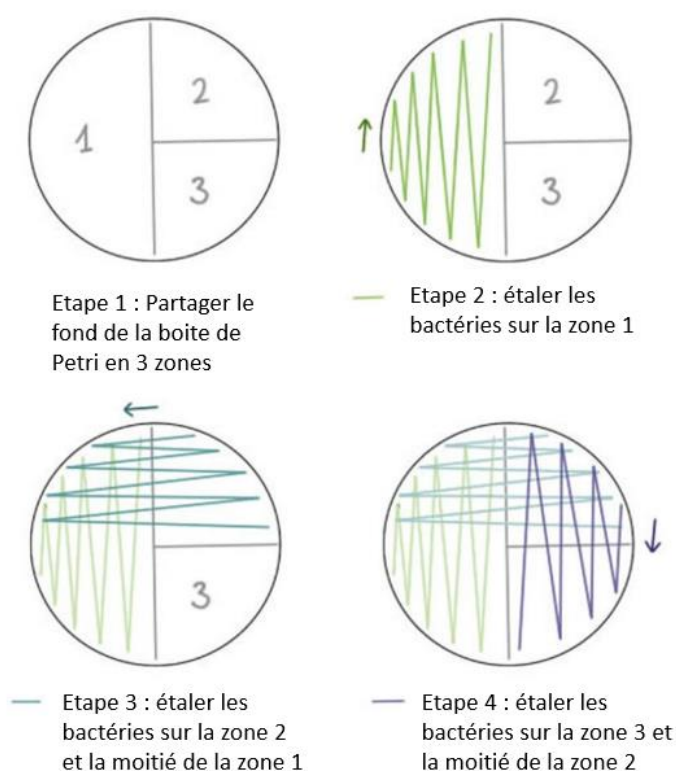


Figure 28 : ensemencement d'une gélose en trois dimensions (95)

### → Choix et dépôt des disques antibiotiques

Pour choisir les disques antibiotiques à utiliser en fonction du groupe bactérien identifié, il est nécessaire de suivre les recommandations de la CA-SFM. Le rapport établi en 2023 indique les antibiotiques, leur diamètre critique ainsi que des règles d'interprétation concernant *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus spp* et *Streptococcus spp*. Concernant les autres genres bactériens, il est recommandé de suivre les recommandations de la CA-SFM pour la médecine humaine (94).

Avant dépôt sur la gélose, les disques doivent être ramenés à température ambiante. Une

fois cela fait, les disques sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince, et ne doivent pas être déplacés par la suite. Pour éviter que les zones d'inhibition des disques ne se recoupent, les disques doivent être déposés à 60 mm de distance les uns des autres, ce qui correspond environ à six disques par gélose. Une exception se retrouve dans le dépôt des disques d'érythromycine et de clindamycine qui doivent être placés à 12 mm de distance pour apprécier la résistance inductible aux lincosamides chez *Staphylococcus spp* et *Streptococcus spp*.

Une fois les disques déposés, la gélose est placée à incuber pendant 16 à 24 heures à l'étuve à 37°C.

### ➔ Lecture et interprétation de l'antibiogramme

La lecture de l'antibiogramme se fait après incubation. La mesure du diamètre de la zone d'inhibition se fait précisément à l'aide d'un pied à coulisse. Les diamètres ainsi mesurés sont ensuite reportés et comparés aux valeurs de référence établies par la CA-SFM. Il est ainsi possible de déterminer le statut de la souche bactérienne étudiée vis-à-vis des antibiotiques testés. Les souches peuvent être « sensibles », « résistantes » ou « intermédiaires ». Concernant les souches dites « intermédiaires », le résultat in vitro n'est pas prédictible de l'évolution thérapeutique ; concernant les souches dites « résistantes », l'échec de traitement est fort probable ; enfin, concernant les souches dites « sensibles », la probabilité de succès thérapeutique est élevée lors de l'utilisation de l'antibiotique par voie systémique avec la posologie recommandée par le RCP.

Tableau XX : détermination du statut de la bactérie en fonction du diamètre d'inhibition mesurée et des valeurs (d et D) données par le référentiel

Diamètre mesuré M (mm)	
Sensible	$M \geq D$
Résistant	$M < d$
Intermédiaire	$d \leq M < D$

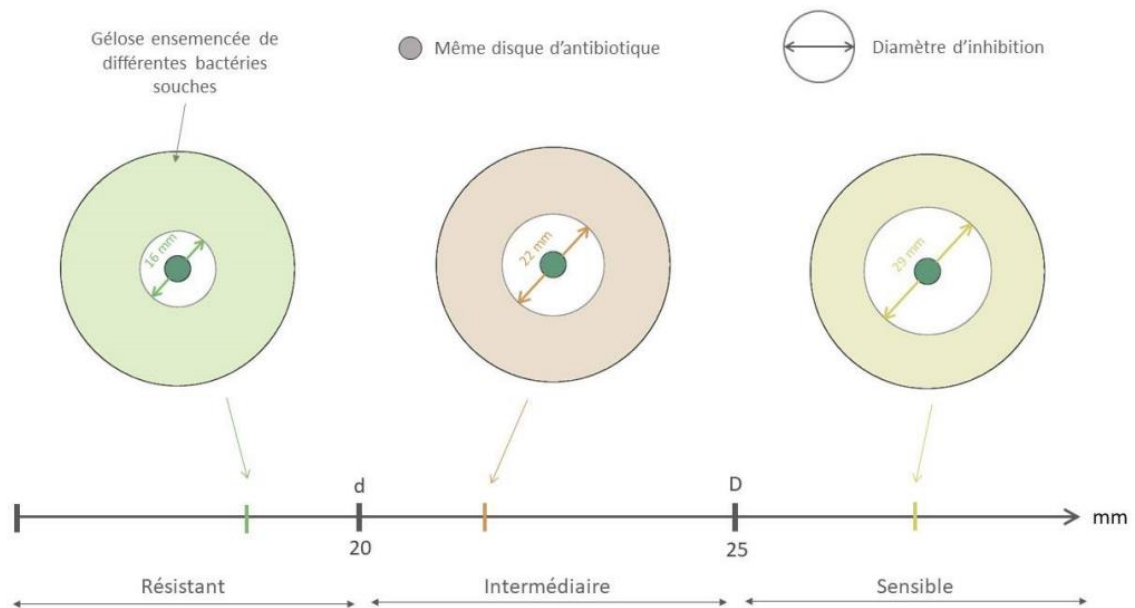


Figure 29 : exemple sur trois cas de mesure de diamètre d'inhibition et de détermination du statut de la bactérie (95)

#### d) Bilan sur la méthode

Cette méthode présente plusieurs utilités dans le cadre de la gestion des mammites bovines :

- ❖ Elle est indispensable à la prescription d'antibiotiques critiques lors de mammites suraiguës ;
- ❖ Elle permet de déterminer si les staphylocoques isolés sont résistants aux  $\beta$ -lactamines ;
- ❖ Elle permet de comprendre certaines récurrences de mammites en mettant en avant des résistances au traitement habituel ;
- ❖ Elle peut être utilisée pour dresser des profils de résistances à l'échelle d'un élevage, mais aussi d'une région ou du pays (à travers le RESAPATH).

Cependant, il ne faut pas systématiser son utilisation en médecine individuelle pour la gestion de mammites cliniques non récidivantes. En effet, l'antibiogramme présente tout son sens lors de la gestion d'une mammite suraiguë ou lors de la détection d'un staphylocoque, mais elle n'apporte pas d'indication pour une infection à streptocoque par exemple, où l'on sait qu'aucune souche n'est résistante à la pénicilline. De plus, les résultats obtenus *in vitro* sont difficilement transposables *in vivo*, dû aux particularités du lait.

Concernant la méthode en elle-même, elle est relativement aisée à réaliser et la lecture ne présente pas de difficultés particulières.

### 3. Les antibiogrammes sous forme de kit : le Speed® Mam Color

Le Speed® Mam Color est un test rapide développé par le laboratoire Virbac. Il a pour but de réaliser une identification bactérienne et un antibiogramme sur du lait de mammite. Il se présente sous forme de mini-galeries de culture contenant vingt-cinq puits. Huit sont réservés à l'identification bactérienne, et permettent de



Figure 30 : kit Speed® Mam Color (Virbac)

détecter les staphylocoques, les streptocoques, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, les entérocoques, les entérobactéries, Pseudomonas et Mycoplasma. Quatorze ont pour but de tester la sensibilité de la bactérie à certains antibiotiques ou association d'antibiotiques. Les trois restants sont des puits témoins. L'un indique le moment de lecture des puits ; et les deux autres ont des témoins positif et négatif permettant de déterminer si le germe est présent dans l'échantillon ou si le test est invalidé. Ces tests sont vendus par lot de cinq, et peuvent se conserver jusqu'à seize mois entre 2 et 8°C (96). La sensibilité de ce test varie entre 89% et 95%. Sa spécificité varie entre 54% et 75% (81).

Tableau XXI : antibiotiques testés par le Speed Mam Color (Virbac)

Antibiotique seul	Association d'antibiotiques
<b>Céfalexine</b>	Amoxicilline + Ac. clavulanique
<b>Céfopérazone</b>	Ampicilline + colistine
<b>Cefquinome</b>	Pénicilline + streptomycine
<b>Cloxaciline</b>	Sulfadimidine + trimétoprime
<b>Ceftiofur</b>	Tétracycline + néomycine + bacitracine
<b>Gentamicine</b>	
<b>Marbofloxacin</b>	
<b>Streptomycine</b>	
<b>Spiramycine</b>	
<b>Trimétoprime</b>	
<b>Tylosine</b>	



Pour réaliser ce test, le puits témoin de la durée de l'incubation doit être complété par cinq gouttes du milieu de culture, et chaque autre puits doit être rempli de trois gouttes d'un mélange de trois gouttes de lait et du milieu de culture. Ensuite, il est nécessaire de rajouter deux gouttes de paraffine sur chaque puits. La lecture se fait après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C pour l'antibiogramme, et après 48 heures pour l'identification. Pour lire ce test, il faut apprécier les changements de couleur des puits.

Concernant l'antibiogramme, le Speed® Mam Color permet de donner un résultat résistant ou sensible. Les résultats sont obtenus rapidement et les résultats sont significativement concordants avec ceux obtenus par un antibiogramme standard. On remarque une certaine surestimation des résistances avec ce test, ce qui pourrait s'expliquer par la détermination de la sensibilité de la bactérie dans le lait plutôt que dans du sérum ou sur gélose. Cependant, ce test présente certains défauts évidents. En effet, la densité de l'inoculum injecté dans les puits n'est absolument pas contrôlée, ce qui aura comme conséquence une interprétation plus ardue des résultats. De même, il est impossible de déterminer les échantillons contaminés ou pluri-infectés, ce qui implique des conséquences difficiles à prévoir sur les puits. Enfin, ce test ne permet pas de détecter les *Staphylococcus aureus* producteurs de  $\beta$ -lactamases, ce qui pourtant constitue une aide importante pour la mise en place de l'antibiothérapie (81).

#### 4. Les anneaux antibiotiques® DECHRA

##### a) Principe

Le laboratoire DECHRA a développé et distribue depuis 2021 des anneaux antibiotiques aussi appelés Rings® permettant de déterminer les sensibilités des bactéries Gram positifs isolées de mammites bovines. La méthode utilise le référentiel européen EUCAST et a été validée lors d'essais sur le terrain en France par comparaison avec la méthode des disques.

Cette méthode se rapproche de la méthode de référence utilisée pour les antibiogrammes à la différence que tous les disques d'antibiotiques sont reliés à l'aide d'un anneau, ce qui facilite la réalisation de l'antibiogramme, sa lecture, et permet ainsi d'avoir une méthode standardisée (97).

La Ring® permet de tester les sept antibiotiques suivants :

- ❖ Pénicilline
- ❖ Céfoxitine
- ❖ Triméthoprim-Sulfaméthoxazole
- ❖ Clindamycine
- ❖ Erythromycine
- ❖ Kanamycine
- ❖ Néomycine.

*b) Matériel et coût*

Le matériel nécessaire à la réalisation de cette méthode d'antibiogramme est le suivant (97):

- ❖ Une souche bactérienne en culture pure
- ❖ Un écouvillon stérile
- ❖ Un tube à essai stérile pour la réalisation de la suspension bactérienne, ainsi qu'un étalon à 0,5 de la gamme de McFarland
- ❖ Une gélose adaptée, Mueller-Hinton simple ou enrichie
- ❖ Une Ring® DECHRA et sa plaque de lecture
- ❖ Une pince
- ❖ Un frigidaire pour stocker les Rings®
- ❖ Un incubateur à CO<sub>2</sub> à 35°C.

Les Rings® se présentent sous la forme de sachets de dix anneaux et sont intégrées dans la politique commerciale du laboratoire DECHRA, et donc offertes aux praticiens pour les accompagner dans la démocratisation de la réalisation d'antibiogrammes en clinique et l'usage responsable des antibiotiques (97).

*c) La réalisation de l'antibiogramme en utilisant les Rings® (98)*

De manière similaire à la méthode des disques, il faut tout d'abord préparer une suspension bactérienne à partir d'une culture pure obtenue après 18 à 24 heures d'incubation. L'inoculum obtenu doit être d'une densité précise. Une fois obtenu, il doit être utilisé préférentiellement dans les quinze minutes suivantes pour inoculer une gélose contenant un milieu standard Mueller-Hinton enrichi ou non en sang. L'ensemencement est réalisé de la

même manière que lors de la réalisation de la méthode traditionnelle : il se fait par un écouvillonnage dans trois directions différentes. Ensuite, l'anneau doit être déposé sur la gélose ensemencée à l'aide d'une pince, en déposant la face écrite au contact de la gélose. Il est important de ne pas toucher les zones imprégnées d'antibiotiques. La gélose est ensuite mise à incuber pendant 24 heures avant de procéder à la lecture des sensibilités. Celle-ci se réalise à l'aide d'une plaque de lecture en plexiglass.

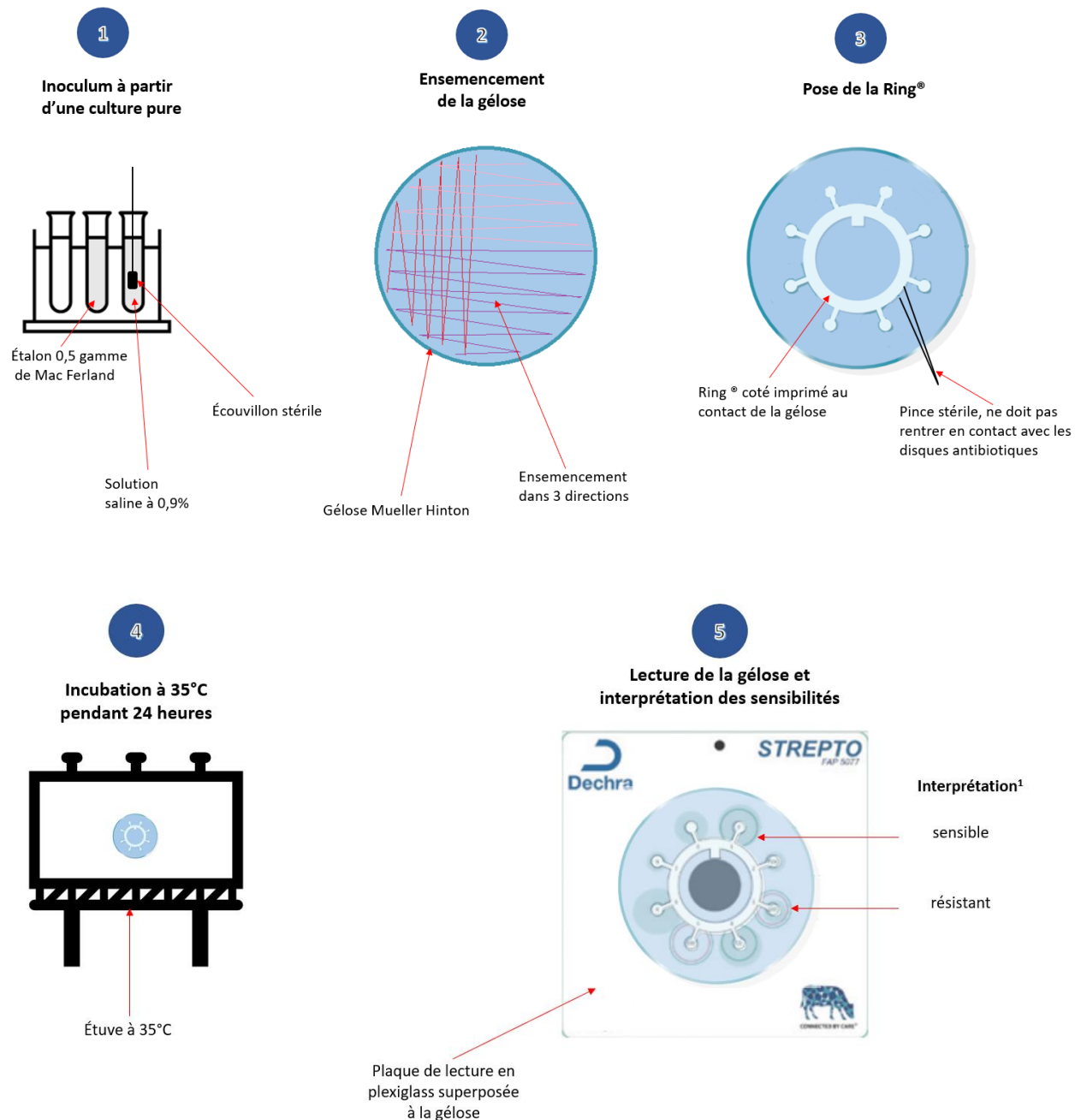


Figure 31 : Etapes de la réalisation et de la lecture d'un antibiogramme réalisé à l'aide des Rings® DECHRA (source Anne BOREL)

<sup>1</sup> : Interprétation :

- ❖ Considéré sensible si la zone d'inhibition dépasse le cercle vert de la plaque de lecture.
- ❖ Considéré intermédiaire si la zone d'inhibition se trouve entre le cercle vert et le cercle rouge de la plaque de lecture.
- ❖ Considéré résistant si la zone d'inhibition se trouve en deçà du cercle vert (et rouge s'il est présent) de la plaque de lecture.

*d) Avantages et inconvénients de la méthode*

Les avantages de cette technique sont (97) :

- ❖ Une facilité d'utilisation et de réalisation avec le dépôt d'une ring® unique sur la gélose par rapport à la méthode des disques qui demande plus de maîtrise pour la réalisation de l'antibiogramme car il faut choisir les disques adaptés, les placer au bon endroit et à des distances précises sur la gélose.
- ❖ L'intégration de cette méthode dans une politique d'utilisation raisonnée des antibiotiques par le laboratoire DECHRA qui propose de même des formations sur les analyses bactériologiques et les antibiogrammes en ligne.
- ❖ Un coût restreint pour la clinique vétérinaire, car cette méthode ne requiert pas de matériel spécifique, hormis les géloses Mueller Hinton et les Rings® qui sont distribuées gratuitement par DECHRA.
- ❖ Une péremption moindre des tests par rapport aux disques individuels dont certains peuvent être rarement utilisés et donc atteindre leur date de péremption.

L'inconvénient principal de cette technique est l'absence de commercialisation en France d'une Ring® pour les bactéries à Gram négatif. Cette absence en France découle du fait que les Rings® respectent la norme européenne EUCAST et non la norme AFNOR, ce qui rend l'utilisation de ces Rings® inadéquate à la prescription d'antibiotiques critiques. Le laboratoire a donc pris la décision de ne pas les distribuer en France pour éviter d'éventuels confusions et abus (92).

5. Mastatest® de Vetoquinol

*a) Rappels*

Le mastatest® est un automate développé par le laboratoire Vetoquinol. Comme vu précédemment, il permet d'obtenir une identification bactérienne du/des germes présents

dans l'échantillon de lait de mammite en vingt-quatre heures. Cet automate détermine aussi la CMI dans le lait de la bactérie identifiée pour les trois antibiotiques suivants (99) :

- ❖ La pénicilline ;
- ❖ L'oxacilline ;
- ❖ La tylosine.

Sur les vingt-quatre puits qui constituent la plaque, six sont destinés à l'identification. Les dix-huit autres contiennent des concentrations croissantes d'antibiotique (0.05, 0.1, 0.5, 1, 2 et 4 µg/ml). Les résultats sont transmis de manière informatique au vétérinaire, et il apparaît en sus de la bactérie identifiée, son statut sensible ou résistant aux trois antibiotiques testés ainsi que les CMI déterminées (99).

#### *b) Intérêts et inconvénients*

Les intérêts de cet automate ont déjà été discutés précédemment : la réalisation de l'analyse est facile et rapide et les résultats sont obtenus en 24 heures. Concernant l'analyse de la sensibilité aux antibiotiques, le principal avantage réside dans l'obtention des CMI dans le lait, ce qui se rapproche davantage des conditions rencontrées lors de l'utilisation de traitements intra mammaires qu'avec la méthode des disques de référence qui se base sur les CMI obtenues en milieu enrichi ou sur sérum humain. Les études portant sur la comparaison de l'estimation des résistances avec le Mastatest® et avec l'antibiogramme classique réalisé en laboratoire tendent à montrer une surestimation des résistances par le Mastatest®, ce qui peut s'expliquer justement par la détermination des CMI dans le lait (99). De plus, pour *Streptococcus uberis*, la valeur de la CMI par rapport à la pénicilline permet de donner un facteur pronostique de la réussite du traitement, de même que la résistance ou non de *Staphylococcus aureus* aux pénicillines. Cependant, cette méthode ne permet de tester la sensibilité des bactéries identifiées qu'à, seulement, trois antibiotiques, et les fluoroquinolones n'en font pas partie. Le Mastatest® ne peut donc pas appuyer et justifier le traitement des mammites sévères avec l'utilisation d'antibiotiques critiques. L'interprétation de ces résultats reste de même à nuancer. Les résultats de sensibilité, notamment à la pénicilline, indiquent principalement les chances de réussite du traitement.

## 6. La méthode E-test

La méthode E-test permet de donner la mesure précise de la CMI d'un antibiotique donné, en utilisant la technique de diffusion en milieu gélosé. Cette méthode est apparue dans les années 1990 et est surtout utilisée en laboratoire du fait de son coût relativement important. Elle nécessite peu de matériel spécifique pour sa mise en place : un inoculum bactérien, un incubateur à CO<sub>2</sub>, une gélose Müller-Hilton et des bandelettes spécifiques. Ces bandelettes, notamment commercialisées par le laboratoire Biomérieux, doivent être stockées à 5°C et à l'abri de l'humidité (100).

Pour déterminer la CMI de l'antibiotique voulu, il est nécessaire d'ensemencer une gélose Müller-Hilton avec un inoculum bactérien contenant 10<sup>6</sup> UFC/mL sur laquelle on déposera une bandelette contenant l'antibiotique, de sorte que la répartition de la molécule se fasse selon un gradient précis. La lecture de la CMI se réalise après 24 à 48 heures d'incubation à 37°C. La valeur de la CMI se lit à l'intersection entre la bandelette et l'ellipse d'inhibition de la culture (101).

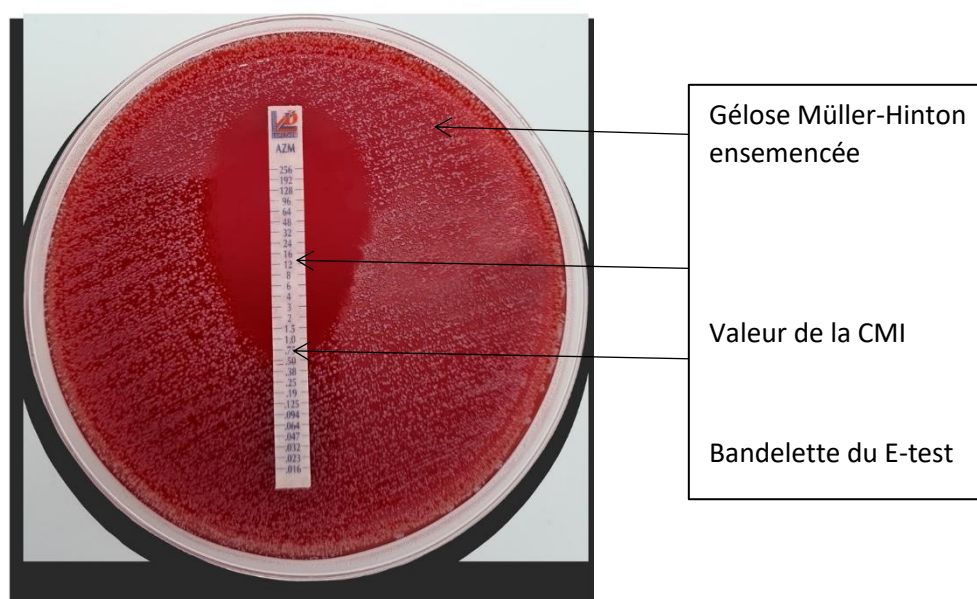


Figure 32 : Lecture du E-test (100)

Concernant l'application de cette méthode dans l'analyse de bactéries impliquées dans les mammites, elle n'est pas encore répandue en routine, la méthode la plus répandue restant la méthode des disques. Cependant, la détermination précise de la CMI pourrait être utile dans le suivi de la sensibilité de *Streptococcus uberis* à la pénicilline. En effet, les *Streptococcus uberis* isolés des mammites bovines sont systématiquement sensibles aux pénicillines G et A.

Une étude a montré que lorsque ces bactéries sont soumises à une pression antibiotique sélective, leur sensibilité à la pénicilline G tend à diminuer, ce qui correspond à une augmentation de la valeur de la CMI, corrélée à une apparition de mutation sur les PLPs, cibles de la pénicilline G. L'obtention de la CMI du *Streptococcus uberis* isolé d'une mammites permet ainsi de déterminer si cette bactérie présente des mutations la rendant moins sensible aux pénicillines (102). Une étude en cours avec la clinique de la Haute Auvergne dans le Cantal cherche actuellement à déterminer si la diminution de la sensibilité des *Streptococcus uberis* pourrait avoir une incidence sur la réussite du traitement. Dans ce cadre-là, le E-test pourrait être utilisé pour apporter une valeur pronostique, peut-être même pour adapter le traitement en cas d'infection à *Streptococcus uberis*.

7. Bilan : Tableau récapitulatif des différents tests existants

Tableau XXII : les différents tests utilisables pour apprécier la sensibilité bactérienne et leurs caractéristiques

	Principe	Matériel spécifique	Prix	Simplicité réalisation et lecture	Avantages	Inconvénients
<b>Kirby-Bauer : méthode des disques</b>	Mesure des diamètres d'inhibition, comparaison aux valeurs de référence	- Gélose - Disques d'antibiotiques - Pied à coulisse - Incubateur	Peu cher, environ 10 euros par analyse.	Nécessité de déposer les disques antibiotiques un par un puis de mesurer les disques précisément.	Peut être utilisée pour la prescription d'antibiotiques critiques (Norme AFNOR NF U47-107).	Contraignante pour le stockage et l'approvisionnement en disques antibiotiques.
<b>Kit Speed Mam Color</b>	Test rapide permettant de déterminer la sensibilité à 11 antibiotiques et 5 associations d'antibiotiques	- Kit - incubateur	Peu cher	Facile à réaliser, interprétation pas toujours évidente.	Facile et rapide.	Peu précis, pas de détection des <i>Staph. aureus</i> producteurs de $\beta$ -lactamases.
<b>Rings® DECHRA</b>	Mesure des diamètres d'inhibition, comparaison aux valeurs de référence	- Gélose - Rings® fournies - Incubateur - Plaque de lecture	Peu cher, Rings® fournies gratuitement par Dechra	Très facile : un seul anneau à poser, lecture grâce à une plaque spécifique	Méthode facile à mettre en place, rapide et peu coûteuse.	Pas d'anneaux disponibles en France pour les bactéries Gram-.
<b>Mastatest</b>	Détermination des résistances à la pénicilline, l'oxacilline et la tylosine.	- Automate - Cassette	Prix d'achat de l'automate relativement cher	Très facile	Obtention des CMI	Données pour seulement trois antibiotiques.
<b>E-Test</b>	Détermination de la CMI.	- Gélose - Bandelette E-test	Cher	Facile	Obtention	Peu utilisé en routine, coûteux.



### III. Bilan : quand est-il intéressant de réaliser des analyses de lait ?

#### A. Déterminer la nature de l'agent pathogène

La détermination de la nature de l'agent pathogène doit être systématique lors de la détection d'une mammite par le vétérinaire et l'éleveur. En effet, elle donne des renseignements précieux sur le traitement à administrer et son résultat permet de donner une estimation du succès ou non du traitement. Le schéma présenté ci-contre dans la **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** indique la démarche que l'on peut suivre lors du diagnostic d'une mammite. Il est important de souligner que cela reste des pistes de réflexion, il est indispensable pour réaliser un diagnostic bactériologique de mettre en œuvre une méthode connue et maîtrisée, de manière à éviter au maximum les erreurs de diagnostic.

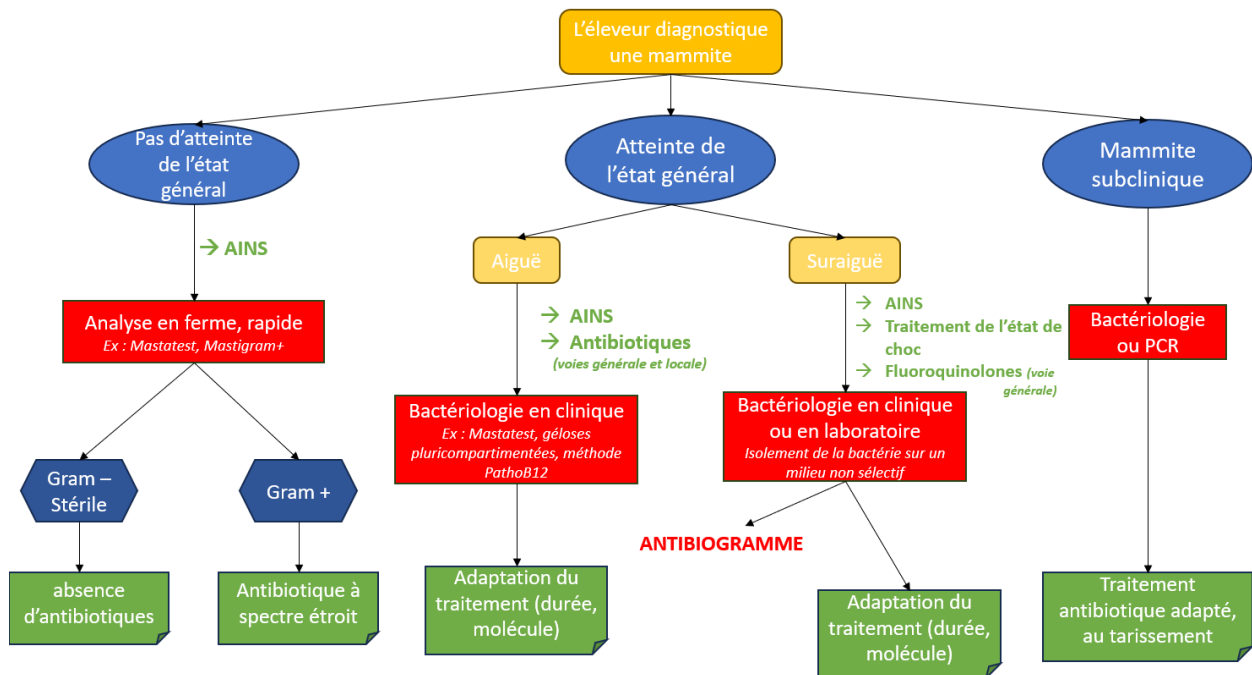


Figure 33 : arbre de décision pour la réalisation de l'examen bactériologique (source personnelle)

#### B. Intérêt de déterminer la sensibilité de la bactérie identifiée aux antibiotiques

*L'intérêt de déterminer la sensibilité aux antibiotiques de la bactérie identifiée dépend de sa nature. En effet, pour certaines bactéries, les données de résistance sont connues et ne justifient pas la réalisation d'un antibiogramme pour la mise en place du traitement. La détermination de la sensibilité des bactéries prend du sens lors de mammites récidivantes, ou*

dans le cadre d'un suivi d'élevage pour déterminer des profils de résistance à l'échelle de l'élevage. Enfin, la recherche de résistances parmi ces bactéries permet un état des lieux de la situation globale et de l'évolution de la sensibilité globale des bactéries à l'échelle régionale ou nationale. La

Figure 34 : arbre de décision pour la détermination de la sensibilité de la bactérie en fonction de sa nature (illustration personnelle) présente la démarche à suivre concernant la détermination de la sensibilité aux antibiotiques d'une bactérie isolée d'un cas de mammite clinique non récidivante.

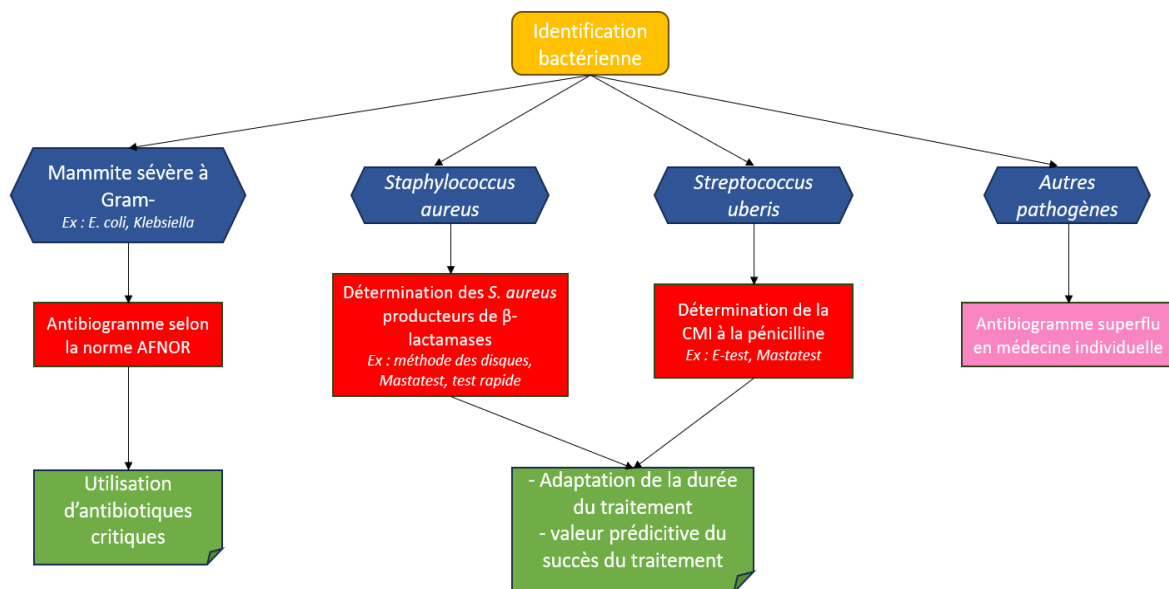


Figure 34 : arbre de décision pour la détermination de la sensibilité de la bactérie en fonction de sa nature (illustration personnelle)

# TROISIEME PARTIE : Bactériologies et antibiogrammes à la clinique de Saint Symphorien sur Coise entre 2018 et 2022 : réalisations, intérêt en pratique et bilan sur les résistances aux antibiotiques

## I. Introduction

Cette étude vise à analyser les résultats des identifications bactériennes ainsi que des antibiogrammes réalisés au cabinet vétérinaire de Saint Symphorien sur Coise dans le cadre de mammites bovines, de 2018 à 2022.

Comme vu précédemment, les infections mammaires et leur traitement sont un sujet important en médecine vétérinaire, autant pour l'éleveur qui cherche à obtenir la guérison de ses bovins et pour le consommateur qui souhaite consommer des produits laitiers de qualité, que pour la santé publique dans un contexte où l'antibiorésistance devient omniprésente.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude visant à montrer l'intérêt que présente la réalisation de ces analyses en cabinet. Les données que nous avons collectées nous ont permis d'établir d'identifier les bactéries rencontrées dans la clientèle ainsi que leurs profils de résistances aux antibiotiques et leurs évolutions. L'analyse des résultats montre que la prise en charge des mammites a été adaptée en fonction des résultats des analyses de bactériologie. Enfin, nous avons comparé les résultats obtenus dans notre clientèle avec les données nationales produites par le RESAPATH.

## II. Matériel et méthodes

### A. Choix des analyses retenues pour l'étude

#### 1. Origine des données

L'étude porte sur l'ensemble de la clientèle du cabinet vétérinaire de Saint Symphorien sur Coise dans le Rhône (69), du 10 janvier 2018 au 11 août 2022. Les analyses étudiées sont les identifications bactériennes dans du lait de bovin et les antibiogrammes qui en ont découlé, réalisés au sein du cabinet par les vétérinaires de la structure. Nous avons choisi d'écartier de notre étude les résultats d'identification restreints au Gram de la bactérie sans le

nom de l'espèce bactérienne. Seules les analyses réalisées au cabinet ont été étudiées. Les rares analyses menées dans des laboratoires extérieurs sont exclues de l'étude.

Les résultats de ces analyses notés dans des cahiers stockés au cabinet ont été saisis de manière informatique dans un document Word ou PDF et compilés dans une base de données sur un serveur informatique. C'est à partir de cette base de données que le travail présenté par la suite a été conduit avec un total de 612 analyses provenant de 64 élevages différents dont :

- 21 élevages dans la Loire (42) ;
- 43 élevages dans le Rhône (69).

## 2. Réalisation des analyses au cabinet

### a) Prélèvements

Les analyses sont réalisées sur des échantillons de lait frais ou congelés. Les prélèvements sont réalisés dans la majorité des cas par les éleveurs. Le prélèvement doit se faire de manière aseptique comme décrit dans la partie précédente. Pour expliquer la méthode aux éleveurs, les vétérinaires leur fournissent un document explicatif (*annexe 1*).

### b) Bactériologies

Tous les vétérinaires du cabinet sont formés à la réalisation des bactériologies. Celles-ci sont réalisées au sein du cabinet, dans une pièce dédiée. Les bactériologies sont réalisées selon la méthode *Patho-12* décrite précédemment. Cela permet d'identifier les levures et les bactéries de type :

- *Streptococcus uberis, agalactiae, dysgalactiae, bovis* et les streptocoques environnementaux
- Les entérobactéries
- *Trueperella pyogenes*
- *Lactococcus spp*
- *Staphylococcus aureus*

- Les staphylocoques à coagulase négative
- *Corynebacterium bovis*
- *Escherichia coli*
- *Klebsiella spp*
- *Proteus spp*
- *Pseudomonas spp*
- *Serratia spp.*

Si cette méthode n'est pas concluante, alors une coloration de Gram est réalisée pour pouvoir ensuite réaliser un antibiogramme adapté.

### c) *Antibiogrammes*

Les antibiogrammes sont réalisés à la suite des bactériologies lorsqu'une ou plusieurs bactéries sont mises en évidence dans l'échantillon de lait. Ils sont réalisés selon la méthode des disques après isolement bactérien, en respectant la norme AFNOR NF U47-107. Les différents antibiotiques dont la sensibilité est testée sont présentés dans le

*Tableau xxiii.*

La cefotaxime est une céphalosporine de troisième génération utilisée en médecine humaine. Son équivalence en médecine vétérinaire est le ceftiofur. Au sein de notre étude, les sensibilités à l'encontre de la cefotaxime nous communiquent ainsi des informations sur la pertinence d'un traitement au ceftiofur.

Tableau XXIII : les disques antibiotiques utilisés en fonction de la famille de la bactérie isolée

Disque antibiotique	Famille des streptocoques et entérocoques	Famille des staphylocoques	Famille des entérobactéries
Oxacilline	<b>OUI</b>	<i>NON</i>	<i>NON</i>
Erythromycine	<b>OUI</b>	<b>OUI</b>	<i>NON</i>
Clindamycine	<b>OUI</b>	<b>OUI</b>	<i>NON</i>
Céfalexine + kanamycine	<b>OUI</b>	<b>OUI</b>	<i>NON</i>
Tétracycline	<b>OUI</b>	<i>NON</i>	<b>OUI</b>
Lincomycine	<b>OUI</b>	<b>OUI</b>	<i>NON</i>
TMPS	<b>OUI</b>	<i>NON</i>	<b>OUI</b>
Pénicilline G	<i>NON</i>	<b>OUI</b>	<i>NON</i>
Céfoxitine	<i>NON</i>	<b>OUI</b>	<i>NON</i>
Pénicilline + Framycétine	<i>NON</i>	<b>OUI</b>	<i>NON</i>
Pirlimicyne	<i>NON</i>	<b>OUI</b>	<i>NON</i>
Amoxicilline + acide clavulanique	<i>NON</i>	<i>NON</i>	<b>OUI</b>
Céfotaxime	<i>NON</i>	<i>NON</i>	<b>OUI</b>
Acide nalidixique	<i>NON</i>	<i>NON</i>	<b>OUI</b>
Néomycine	<i>NON</i>	<i>NON</i>	<b>OUI</b>
Cefquinome	<i>NON</i>	<i>NON</i>	<b>OUI</b>

### C. Traitement des données

#### 1. Classement des données

Les données ont été re-saisies manuellement dans des tableurs Excel. Dans un premier temps, les données provenant du Rhône et celles provenant de la Loire ont été traitées séparément. Nous avons reporté les différentes analyses par année, puis les analyses provenant des deux départements ont été compilées par bactérie, avec une bactérie par onglet.

Les données ont été classées comme dans le Tableau XXIV.

Tableau XXIV : Récapitulatifs des informations récoltées et collectées dans des tableaux Excel

<b>Informations générales</b>	Nom/numéro de la vache	<i>Exemple : Lisette</i>
	Date de l'analyse	<i>jj/mm/aaaa</i>
<b>Information sur le prélèvement</b>	Quartier	<i>AvD ou AvG ou ArD ou ArG</i>
	Etat de la lactation	<i>M (mammite) ou C (cellules) ou T (tarissement) ou après ttt (après traitement)</i>
	Rang de lactation	<i>Exemple : 1</i>
<b>Résultat de la bactériologie</b>	Pathogène	<i>Nom de la bactérie/levure Ou Stérile Ou Polycontaminé</i>
<b>Résultat de l'antibiogramme</b>	Nom de l'antibiotique	<i>R ou I ou S</i>
	Diamètre d'inhibition	<i>Exemple : 20</i>
<b>Traitement</b>	Spécialité	<i>Nom du/des médicaments</i>
	Posologie	<i>Dose et durée</i>
<b>Conseils</b>	Réforme ?	<i>Oui ou Non</i>
	Tarissement ?	<i>Oui ou Non</i>

Tous les comptes rendus utilisés ne comprennent pas l'entièreté des informations présentées dans le tableau ci-dessus, certains éleveurs n'ayant pas communiqué la totalité des informations. Selon les paramètres que nous étudions, si l'information est manquante, l'analyse n'est pas prise en compte pour notre étude.

## 2. Analyses des données

Les graphiques, figures et tableaux ont été réalisés avec un tableur Excel. L'analyse statistique des données récoltées a été réalisée avec le logiciel R et l'interface R Studio (R Core Team 2022).

Notre premier objectif était d'étudier les analyses récoltées sur notre clientèle. Pour cela, nous avons tout d'abord étudié les résultats des analyses bactériologiques pour déterminer les fréquences d'identification des pathogènes. Ensuite, nous nous sommes intéressés aux résultats des antibiogrammes. Nous avons étudié les résistances aux différents antibiotiques testés. Pour cela, nous avons établi les fréquences de sensibilité des bactéries aux antibiotiques en excluant les pathogènes déterminés intermédiaires ou résistants à



l'antibiotique donné. Nous avons décidé de séparer les bactéries gram négatif et gram positif pour une question de lisibilité des tableaux. Enfin, nous avons étudié les variations de sensibilité des staphylocoques à coagulase négative sur la durée de notre étude : de 2018 à 2022.

Notre deuxième objectif était de comparer les résultats de nos analyses centrées sur la clientèle de Saint Symphorien sur Coise avec les résultats du RESAPATH qui regroupe des analyses provenant de la France entière. Nous avons voulu déterminer s'il existe des différences significatives entre les proportions de pathogènes retrouvés ainsi qu'entre les pourcentages de sensibilité aux antibiotiques dans ces deux groupes.

- Concernant les proportions de pathogènes qu'on retrouve à Saint Symphorien sur Coise et les proportions du RESAPATH

Nous avons utilisé le test du Chi<sup>2</sup> de conformité pour déterminer s'il existe une différence significative entre les proportions de pathogènes qu'on retrouve à Saint Symphorien sur Coise et les proportions du RESAPATH, dans un premier temps de manière générale puis, dans un deuxième temps, pathogène par pathogène. Les conditions de validité du test sont respectées, car on considère que les individus des deux populations sont indépendants ; et tous les effectifs attendus sous l'hypothèse nulle sont supérieurs ou égaux à cinq. Les calculs ont été réalisés avec les fonctions `chisq.test()` et `prop.test()`.

- Concernant les différences de sensibilité aux antibiotiques des différents pathogènes

Nous avons ici étudié les différences significatives entre les sensibilités aux antibiotiques des différents pathogènes identifiés. Nous avons seulement pu comparer ces sensibilités lorsque nous avons les résultats des antibiogrammes pour les mêmes antibiotiques testés sur les mêmes bactéries. Pour cela nous avons utilisé soit le test du Chi<sup>2</sup> soit le test exact de Fisher. En effet, nous considérons toujours que les individus des deux populations sont indépendants. Cependant, certains effectifs attendus sous l'hypothèse nulle n'étaient pas supérieurs ou égaux à cinq, ce qui nous a entraîné à utiliser le test de Fisher dans ces cas-là (*annexe 2*). Les calculs ont été réalisés avec les fonctions `prop.test()` et `fisher.test()`.

### III. Résultats de l'étude

Cette étude se divise en deux parties. Dans un premier temps, nous présenterons et étudierons les résultats des analyses obtenus sur la clientèle étudiée. Dans un deuxième temps, nous comparerons les profils de bactéries et leurs résistances obtenues au cours de notre étude avec les données publiées par l'ANSES en 2020 du RESAPATH national.

#### A. Présentation des résultats des analyses sur la clientèle étudiée

1. Présentation des résultats des bactériologies réalisées entre 2018 et 2022 au cabinet

Dans cette partie, nous comptabilisons tous les examens bactériologiques réalisés sur des échantillons de lait de bovin au sein du cabinet sur cette période, ce qui correspond à un total de 612 analyses.

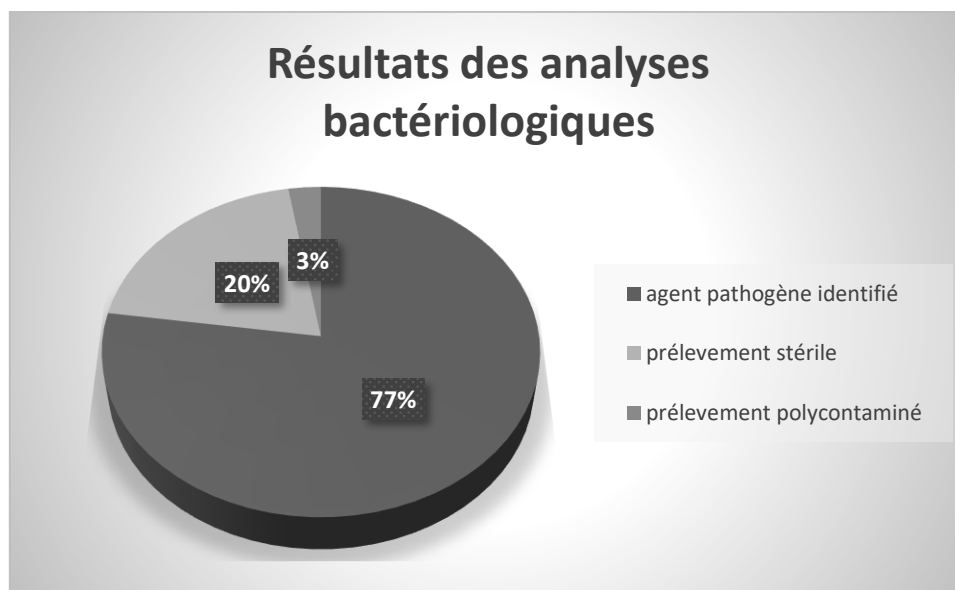


Figure 35: répartition des analyses en fonction du résultat

Sur l'ensemble des analyses bactériologiques réalisées, nous identifions l'agent pathogène impliqué dans la mammite dans 77% des cas, les 23% restants correspondant à des échantillons stériles ou polycontaminés.

On va s'intéresser à l'identification de ces agents pathogènes dans le **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**

Tableau XXV : prévalence des pathogènes détectés à l'aide des analyses réalisées à Saint Symphorien sur Coise de 2018 à 2022

Pathogènes	Prévalence	Fréquence (%)
Staphylocoques à coagulase négative	182	38,48
<i>Staphylococcus aureus</i>	52	10,99
<i>Streptococcus uberis</i>	74	15,64
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	43	9,09
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	0,42
<i>Streptococcus bovis</i>	2	0,42
Streptocoques autres	5	1,06
<i>Enterococcus</i>	40	8,46
<i>Corynebacterium</i>	16	3,38
<i>Escherichia coli</i>	35	7,40
<i>Klebsiella spp</i>	7	1,48
<i>Serratia spp</i>	7	1,48
<i>Pseudomonas spp</i>	2	0,42
Levures	6	1,27
<b>TOTAUX</b>	<b>473</b>	<b>100</b>

De 2018 à 2022, 473 analyses bactériologiques réalisées dans le cadre de notre étude ont permis d'identifier l'agent pathogène responsable de la mammite bovine de l'échantillon de lait considéré. Selon notre étude, on observe différents types d'agents pathogènes : des bactéries (98,7%) de genre *Staphylococcus* (49,5%) avec *Staphylococcus à coagulase négative* et *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* (26,6%) avec principalement *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae* et *Streptococcus bovis*, *Enterococcus* (8,4%), *Escherichia coli* (7,4%), *Corynebacterium bovis* (3,4%), *Klebsiella spp* (1,5%), *Serratia spp* (1,5%) et *Pseudomonas spp* (0,4%) ; ainsi que des levures (1,3%).

## 2. Etude des fréquences des sensibilités selon la bactérie sur la clientèle

Cette partie se base sur les 425 antibiogrammes réalisés au sein de la clinique entre 2018 et 2022.

### a) Les bactéries Gram négatif

Dans cette partie, nous étudions les fréquences de sensibilité des bactéries Gram négatif à différents antibiotiques. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau XXVI : Profils de sensibilité des bactéries Gram négatif selon les résultats des antibiogrammes réalisés au sein de la clinique, de 2018 à 2022

On rappelle que *Escherichia coli* ne présente pas de résistance naturelle aux antibiotiques testés, contrairement à *Klebsiella spp* et *Serratia spp* qui présentent une résistance naturelle aux pénicillines, et donc à l'amoxicilline. *Pseudomonas spp* présente, quant à elle, de nombreuses résistances naturelles, notamment aux pénicillines et aux céphalosporines de première génération, ainsi qu'aux quinolones et aux tétracyclines.

Tableau XXVI : Profils de sensibilité des bactéries Gram négatif selon les résultats des antibiogrammes réalisés au sein de la clinique, de 2018 à 2022

Antibiotiques	Bactéries		<i>Escherichia coli</i>		<i>Serratia spp</i>		<i>Klebsiella spp</i>		<i>Pseudomonas spp</i>	
	Total	%S	Total	%S	Total	%S	Total	%S	Total	%S
Amoxicilline	35	14	7	0(RN)	7	0 (RN)	2	0 (RN)		
Cefotaxime (C3G)	35	80	7	100	7	86	2	50		
Cefquinome (C4G)	1	0								
Cefquinome + kanamycine	1	100								
Acide nalixinique	34	82	7	100	7	100	2	50 (RN)		
Néomycine	32	28	6	67	7	43	2	50		
Tétracycline	35	69	7	29	7	57	2	50 (RN)		
Sulfamide + TMPS	32	84	7	100	7	100	2	100		

➤ Pour *Escherichia coli*

Dans cette étude, on observe un grand nombre de résistances acquises par *E. coli*, notamment à l'amoxicilline (86% des bactéries résistantes) et à la néomycine (72% des bactéries résistantes). La seule souche ayant été testée avec la cefquinome y est résistante, mais est sensible à l'association cefquinome et kanamycine. Néanmoins, on observe une

bonne sensibilité de *E. coli* à la cefotaxime, l'acide nalixinique et l'association sulfamide triméthoprime, avec environ 20% de bactéries résistantes à ces antibiotiques. Les tétracyclines sont efficaces dans 69% des cas.

➤ Pour *Serratia spp*

Dans cette étude, on n'observe pas de résistances acquises par *Serratia spp* à la cefotaxime, à l'acide nalixinique et à l'association sulfamide triméthoprime. On observe un grand nombre de résistances acquises aux tétracyclines (71% de bactéries résistantes). Les souches testées sont toutes résistantes à l'amoxicilline. La néomycine est efficace dans 67% des cas.

➤ Pour *Klebsiella spp*

Dans cette étude, on n'observe pas de résistances acquises par *Klebsiella spp* à l'acide nalixinique et à l'association sulfamide triméthoprime. Les souches testées sont toutes résistantes à l'amoxicilline. On observe une bonne sensibilité de *Klebsiella spp* à la cefotaxime (14% de résistances). Un nombre assez important de résistances acquises à la néomycine (57% de résistances) et aux tétracyclines (43%) est observé.

➤ Pour *Pseudomonas spp*

Dans cette étude, on n'observe pas de résistances acquises par *Pseudomonas spp* à l'association sulfamide triméthoprime. Les souches testées sont toutes résistantes à l'amoxicilline. On observe une sensibilité intermédiaire de *Pseudomonas spp* à la cefotaxime, à l'acide nalixinique, à la néomycine et à la tétracycline (50% de résistances).

b) *Les bactéries Gram positif*

Dans cette partie, nous étudions les fréquences de sensibilité des bactéries Gram positif à différents antibiotiques. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau XXVII : Profils de sensibilité des bactéries Gram positif selon les résultats des antibiogrammes réalisés au sein de la clinique, de 2018 à 2022

On rappelle que les staphylocoques sont naturellement résistants aux quinolones de première génération et à la colistine. Les streptocoques sont naturellement résistants aux quinolones de première génération et à la colistine, et présentent une résistance de bas niveau aux

aminosides. Les entérocoques présentent une résistance naturelle aux céphalosporines, aux quinolones, aux sulfamides et une résistance de bas niveau aux aminosides.

Tableau XXVII : Profils de sensibilité des bactéries Gram positif selon les résultats des antibiogrammes réalisés au sein de la clinique, de 2018 à 2022

Antibiotiques	Bactéries		<i>Staphylocoques à coagulase négative</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Streptococcus uberis</i>		<i>Streptococcus Dysgalactiae</i>		<i>Streptococcus agalactiae</i>		<i>Streptococcus bovis</i>		<i>Enterocoques</i>	
	Total	%S	Total	%S	Total	%S	Total	%S	Total	%S	Total	%S	Total	%S		
Pénicilline	165	60	49	82	1	0										
Oxacilline					68	50	41	49	2	50	2	100	38	34		
Cefalexine	157	92	46	89	67	88	42	88	2	100	2	100	37	84 (RN)		
Cefoxitine	167	75	49	63	1	0										
Cefotaxime													1	0 (RN)		
Cefquinome													1	0 (RN)		
Cefquinome + kanamycine					1	100										
Framycétine	156	92	49	94												
Gentamycine	2	100	9	78												
Pirlymicine	112	79	36	89	62	71	31	84	1	100	1	100	31	65		
Clindamycine	42	74			7	100	9	100	1	100	1	100	6	67		
Erythromycine	166	74	47	79	69	78	42	79	2	100	2	100	38	63		
Tétracycline	4	0	1	100	66	77	42	31	2	100	2	100	38	58		

➤ Pour les staphylocoques à coagulase négative

Dans cette étude, on n'observe pas de résistances acquises par les staphylocoques à coagulase négative à la gentamycine. Au contraire, toutes les souches testées sont résistantes à la tétracycline. On observe une très bonne sensibilité des staphylocoques à coagulase négative à la céfalexine et à la framycétine (8% de résistances) et une bonne sensibilité à la céfoxitine, la pirlymicine, la clindamycine et l'érythromycine (entre 20% et 30% de résistances).

➤ Pour *Staphylococcus aureus*

Dans cette étude, on n'observe pas de résistances acquises par *Staphylococcus aureus* aux tétracyclines. On observe une très bonne sensibilité de *Staphylococcus aureus* à la framycétine, à la céfalexine et à la pirlymicine (environ 10% de résistances), et une bonne sensibilité à la pénicilline, à la gentamicine et à l'érythromycine (environ 20% de résistances). La céfoxitine est efficace dans 63% des cas.

➤ Pour *Streptococcus uberis*

Dans cette étude, on n'observe pas de résistances acquises par *Streptococcus uberis* à la clindamycine et à l'association cefquinome kanamycine. Au contraire, toutes les souches testées sont résistantes à la pénicilline et à la céfoxitine. On observe une très bonne sensibilité de *Streptococcus uberis* à la céfalexine (12% de résistances) et une bonne sensibilité à la pirlymicine, l'érythromycine et aux tétracyclines (entre 20% et 30% de résistances). L'oxacilline est efficace dans 50% des cas.

➤ Pour *Streptococcus dysgalactiae*

Dans cette étude, on n'observe pas de résistances acquises par *Streptococcus dysgalactiae* à la clindamycine. On observe une bonne sensibilité de *Streptococcus dysgalactiae* à la pirlymicine et à la céfalexine (environ 15% de résistances) et une bonne sensibilité à l'érythromycine (entre 20% et 30% de résistances). L'oxacilline est efficace dans 49% des cas. Un nombre assez important de résistances acquises aux tétracyclines (69% de résistances) est observé.



➤ Pour *Streptococcus agalactiae*

Dans cette étude, on n'observe pas de résistances acquises par *Streptococcus agalactiae* à la clindamycine, à la céfalexine, à la pirlymicine, à l'érythromycine et aux tétracyclines. L'oxacilline est efficace dans 50% des cas.

➤ Pour *Streptococcus bovis*

Dans cette étude, on n'observe pas de résistances acquises par *Streptococcus bovis* à l'ensemble des antibiotiques testés : la clindamycine, la céfalexine, la pirlymicine, l'érythromycine, l'oxacilline et les tétracyclines.

➤ Pour les entérocoques

Dans cette étude, toutes les souches testées sont résistantes à la céfotaxime et à la cefquinome. On observe une bonne sensibilité des entérocoques à la céfalexine (16% de résistances) et une sensibilité intermédiaire à la pirlymicine, à la clindamycine et à l'érythromycine (environ 35% de résistances). Les tétracyclines sont efficaces dans 58% des cas. Un nombre assez important de résistances acquises à l'oxacilline (66% de résistances) est observé.

3. Evolution des résistances sur la période d'étude : exemple des staphylocoques à coagulase négative

Dans cette partie, nous avons voulu étudier les variations de sensibilité des staphylocoques à coagulase négative sur la période de l'étude. Cette évolution est observable sur cinq ans, et regroupe un ensemble de 166 antibiogrammes pour six antibiotiques testés.

Tableau XVIII : Nombre de souches testées par antibiotiques et par année au sein de la clinique durant les cinq années de l'étude

	Erythromycine	Céfalexine	Pénicilline	Céfoxitime	Framycétine	Pirlymicine
2018	33	28	33	33	26	
2019	32	28	32	32	31	11
2020	45	44	45	45	45	45
2021	34	34	34	34	32	34
2022	23	23	23	23	22	22

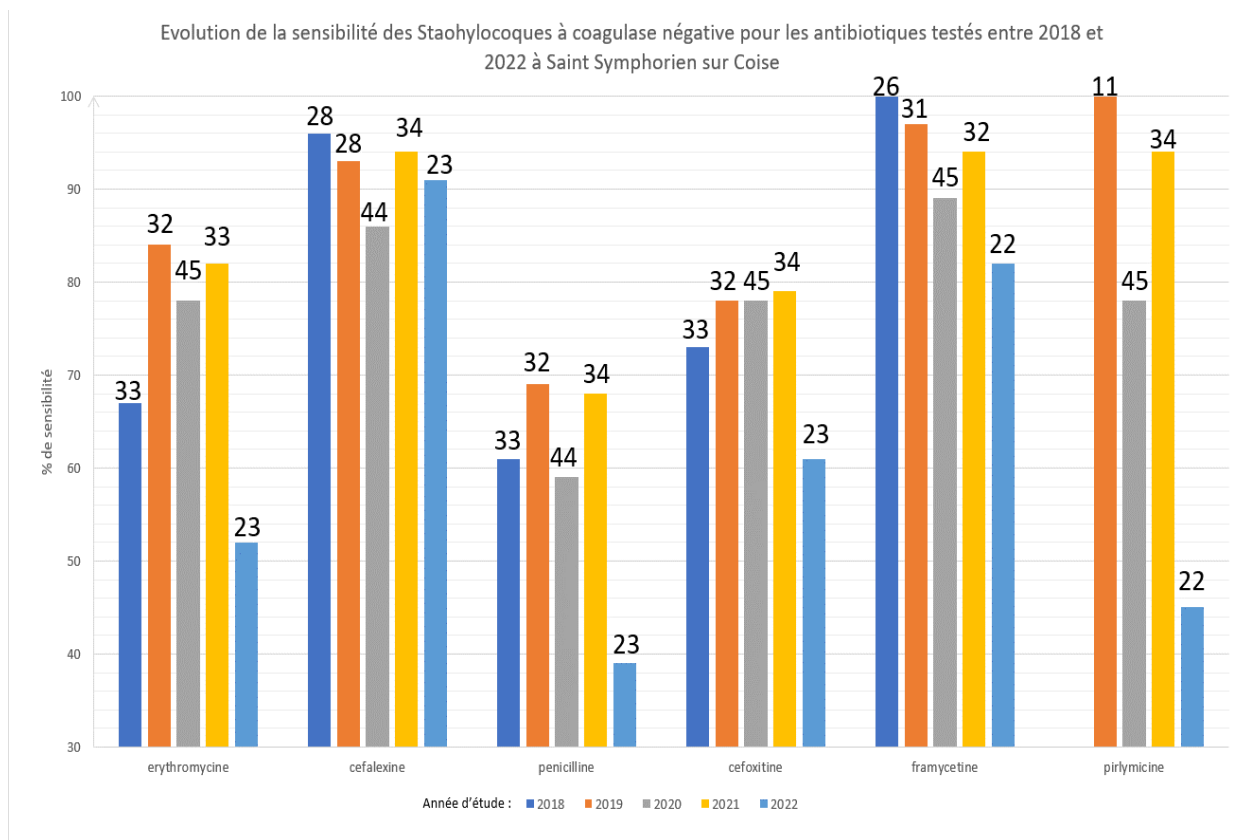


Figure 36 : évolution de la sensibilité des Staphylocoques à coagulase négative pour les antibiotiques testés entre 2018 et 2022 à Saint Symphorien sur Coise

Remarque : les chiffres notés sur les barres de l'histogramme indiquent le nombre d'antibiogrammes réalisés par année et par antibiotique.

Concernant les résistances à l'érythromycine et la pénicilline, elles diminuent entre 2018 et 2019 pour ensuite stagner de 2019 à 2021 puis augmenter fortement entre 2021 et 2022 : concernant l'érythromycine on passe d'environ 20% de souches résistantes à quasiment 50% de souches résistantes, et concernant la pénicilline on passe d'environ 30% de souches résistantes à plus de 60% de souches résistantes.

Concernant les résistances à la céfalexine et à la framycétine, elles suivent sensiblement les mêmes évolutions. On note une augmentation des résistances entre 2018 et 2020 pour ensuite connaître une légère diminution entre 2020 et 2021, et de nouveau une augmentation entre 2021 et 2022.

Concernant les résistances à la céfoxitine, elles diminuent légèrement de 2018 à 2021 pour augmenter fortement entre 2021 et 2022 avec 20% de souches résistantes en plus.

Concernant les résistances à la pirlymicine, elles augmentent de 20% entre 2019 et 2020, pour ensuite diminuer de 15% entre 2020 et 2021 et de nouveau augmenter fortement entre 2021 et 2022 : on passe de moins de 10% de souches résistantes à plus de 50%.

De manière générale, on remarque que pour les six antibiotiques testés, la proportion de souches résistantes parmi les souches testées a augmenté entre 2018 et 2022. De plus, on remarque une hausse sensiblement importante de la proportion des souches résistantes pour ces six antibiotiques entre 2021 et 2022. Cependant, il est important de souligner qu'au vu, des variations d'échantillonnage, il est difficile de déterminer si ces variations sont réellement significatives.

## B. Comparaison des résultats de l'étude avec ceux du RESAPATH

### 1. Proportions des pathogènes

Dans cette partie, nous avons voulu étudier les différences et similitudes dans la répartition des pathogènes impliqués dans les mammites bovines de 2018 à 2021 et détectés par les bactériologies réalisées à la clinique de Saint Symphorien sur Coise et celles dont les résultats sont compilés dans le RESAPATH. Cette étude est réalisée à l'aide de 407 résultats de bactériologies réalisées à Saint Symphorien sur Coise et 16413 résultats de bactériologies provenant du RESAPATH.

Dans un premier temps, nous avons considéré que les bovins laitiers de la clientèle de Saint Symphorien sur Coise et ceux des clientèles du RESAPATH représentaient deux populations distinctes avec des caractéristiques similaires. Nous avons voulu déterminer s'il existait une différence significative de répartition des pathogènes responsables de mammites entre ces deux populations. Les résultats du test du  $\chi^2$  témoignent d'une différence significative de la répartition de ces pathogènes entre les deux populations ( $p$ -value  $< 2,2 \cdot 10^{-16}$ ).

Dans un deuxième temps, nous avons voulu affiner les analyses dans le but de chercher à savoir à quoi était dû cette différence. Pour cela, nous avons cherché à déterminer, pour chaque pathogène détecté dans nos deux populations d'étude, s'il existait une différence significative entre les proportions rencontrées dans nos deux populations. Les résultats sont

présentés dans la Figure 37 : Prévalence des différents pathogènes identifiés à Saint Symphorien sur Coise et par le Resapath, entre 2018 et 2021

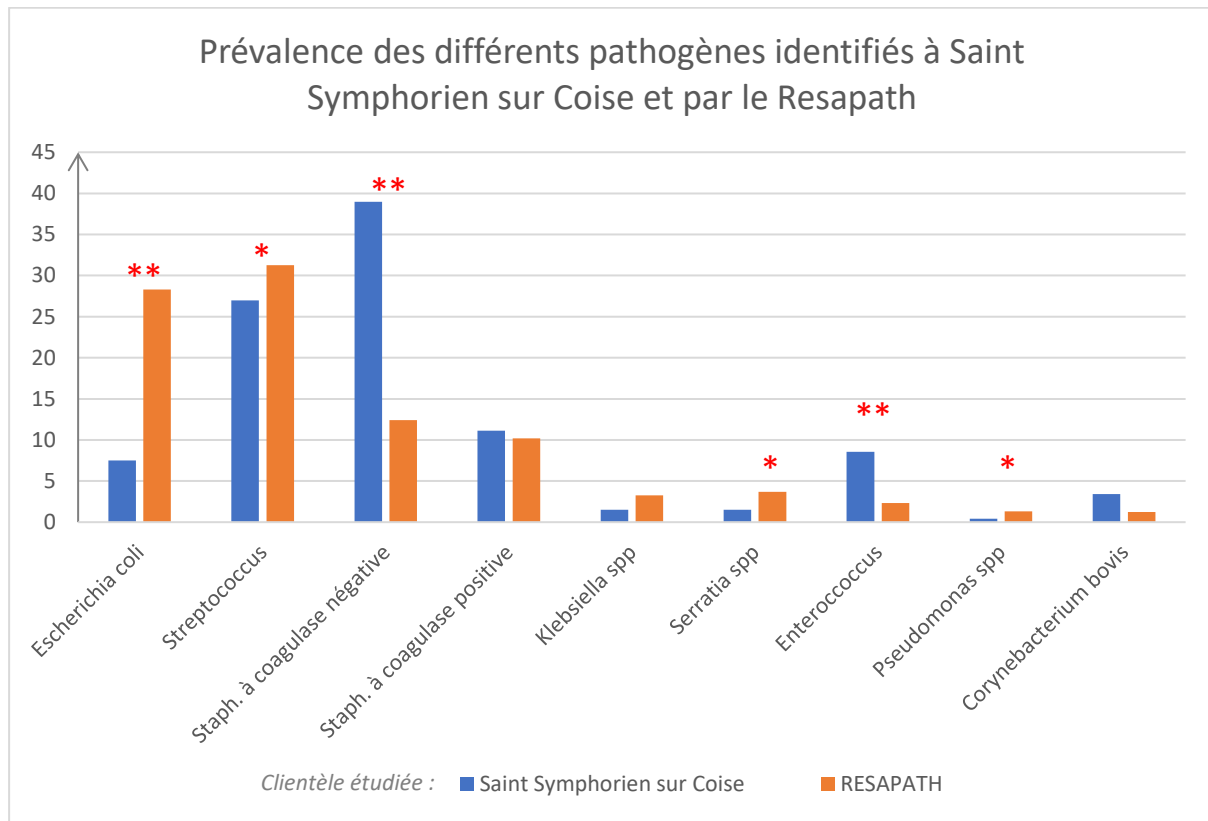


Figure 37 : Prévalence des différents pathogènes identifiés à Saint Symphorien sur Coise et par le Resapath, entre 2018 et 2021

Concernant les prévalences des pathogènes de mammite que nous avons obtenues grâce aux analyses réalisées et compilées entre 2018 et 2021 à Saint Symphorien sur Coise et par le RESAPATH, nous observons que :

- Les prévalences des staphylocoques à coagulase positive (p-value = 0,9923), des *Klebsiella spp* (p-value = 0,09939) et des *Pseudomonas spp* (p-value = 0,1793) ne sont pas significativement différentes entre ces deux populations.
- Les prévalences des streptocoques (p-value = 0,0025), des *Serratia spp* (p-value = 0,01189) et des corynébactéries (p-value = 0,001434) sont significativement différentes entre ces deux populations.
- Les prévalences des *Escherichia coli* (p-value <  $2,2 \cdot 10^{-16}$ ), des staphylocoques à coagulase négative (p-value <  $2,2 \cdot 10^{-16}$ ) et des entérocoques (p-value =  $1,115 \cdot 10^{-14}$ ) sont significativement différentes.

*Escherichia coli*, *Serratia spp* et les streptocoques sont significativement plus souvent détectés comme agents responsables de mammite bovine à l'échelle nationale. Au contraire, les staphylocoques à coagulase négative, les entérocoques et les corynébactéries sont plus souvent détectés au sein de la clientèle de Saint Symphorien sur Coise.

## 2. Proportions des résistances

Dans cette partie nous avons voulu étudier s'il existait des différences significatives entre les profils de sensibilité aux antibiotiques des bactéries identifiées à Saint Symphorien sur Coise et ceux des bactéries identifiées par le RESAPATH. Pour cela nous avons pris les résultats des antibiogrammes entre 2018 et 2021. Nous avons uniquement comparé les résistances aux antibiotiques pour lesquels nous avons des données dans les deux populations. Des résistances croisées existant entre la clindamycine (testée à Saint Symphorien) et la lincomycine (testée par le RESAPATH), nous avons donc comparé les résistances à ces deux molécules de manière indifférente. Il ne faut cependant pas perdre de vue lors de la lecture des résultats que la différence importante de taille des effectifs a un impact sur l'interprétation que l'on peut faire des résultats obtenus.

Tableau XXVIII : comparaison des fréquences des sensibilités rencontrées au sein de nos deux populations d'études entre 2018 et 2021

Antibiotiques	<i>Escherichia coli</i>		<i>Klebsiella spp</i>		<i>Serratia spp</i>		<i>Staph. coag neg</i>		<i>Staph. aureus</i>		<i>Streptococcus uberis</i>		<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	
	Etude	RESAPATH	Etude	RESAPATH	Etude	RESAPATH	Etude	RESAPATH	Etude	RESAPATH	Etude	RESAPATH	Etude	RESAPATH
Tétracycline	70% (30)	78% (4271)	57% (7)	83% (300)	29%* (7)	5%* (543)	0%* (4)	84%* (1951)	100% (1)	93% (1586)	74% (50)	81% (3669)	37%* (35)	15%* (622)
Néomycine	28%* (32)	87%* (3039)	43%* (7)	97%* (173)	67%* (6)	99%* (402)								
Gentamycine							100% (2)	99% (2007)						
Sulfamide TMPS	83% (30)	87% (4596)	100% (7)	95% (312)	100% (7)	99% (570)								
Erythromycine							79%* (155)	96%* (1805)	80%* (41)	95%* (1492)	80% (51)	85% (3741)	80% (35)	85% (622)
Pirlymicine							87% (90)	93% (200)	90% (30)	95% (171)				
Clindamycine/lincosamine							74%* (42)	80%* (2033)	78%* (9)	96%* (1694)	100% (7)	82% (4025)	100% (9)	89% (681)
Pénicilline							63% (142)	74% (2038)	79% (43)	82% (1698)				
Amoxicilline	15%* (33)	62%* (4687)												
Oxacilline											48%* (50)	82%* (3425)	47%* (34)	98%* (586)
Céfoxitine							77%* (144)	96%* (1889)	60%* (43)	93%* (1602)				
Cefquinome	0%* (1)	100%* (4318)												
Acide nalixinique	81%* (32)	95%* (3328)	100% (7)	92% (196)	100% (7)	100% (374)								

- Les cases colorées en rouge et les \* témoignent d'une différence significative entre les deux valeurs de résistance
- Le chiffre entre parenthèse ( ) correspond au nombre total de souches de la bactérie testée pour un antibiotique donné

➤ Pour *Escherichia coli*

Concernant la tétracycline et l'association sulfamide triméthoprimine, il n'existe pas de différences significatives entre les proportions de résistances des souches d'*Escherichia coli* étudiées à Saint Symphorien et par le RESAPATH. Les souches étudiées à Saint Symphorien sont significativement plus résistantes à la néomycine, à l'amoxicilline, à la cefquinome et à l'acide nalixinique que celles étudiées par le RESAPATH.

➤ Pour *Klebsiella spp*

Concernant la tétracycline, l'acide nalixinique et l'association sulfamide triméthoprimine, il n'existe pas de différences significatives entre les proportions de résistances des souches de *Klebsiella spp* étudiées à Saint Symphorien et par le RESAPATH. Les souches étudiées à Saint Symphorien sont significativement plus résistantes à la néomycine que celles étudiées par le RESAPATH.

➤ Pour *Serratia spp*

Concernant l'acide nalixinique et l'association sulfamide triméthoprimine, il n'existe pas de différences significatives entre les proportions de résistances des souches de *Serratia spp* étudiées à Saint Symphorien et par le RESAPATH. Les souches étudiées à Saint Symphorien sont significativement plus résistantes à la néomycine que celles étudiées par le RESAPATH. Les souches étudiées à Saint Symphorien sont significativement moins résistantes aux tétracyclines que celles étudiées par le RESAPATH.

➤ Pour les staphylocoques à coagulase négative

Concernant la gentamycine, la pirlymicine et la pénicilline, il n'existe pas de différences significatives entre les proportions de résistances des souches de staphylocoques à coagulase négative étudiées à Saint Symphorien et par le RESAPATH. Les souches étudiées à Saint Symphorien sont significativement plus résistantes à la tétracycline, à l'érythromycine, à la lincomycine et à la céfoxitine que celles étudiées par le RESAPATH.

➤ Pour *Staphylococcus aureus*

Concernant la tétracycline, la pirlymicine et la pénicilline, il n'existe pas de différences significatives entre les proportions de résistances des souches de *Staphylococcus aureus*

étudiées à Saint Symphorien et par le RESAPATH. Les souches étudiées à Saint Symphorien sont significativement plus résistantes à la tétracycline, à l'érythromycine, à la lincomycine et à la céfoxitine que celles étudiées par le RESAPATH.

➤ Pour *Streptococcus uberis*

Concernant la tétracycline, l'érythromycine et la lincomycine, il n'existe pas de différences significatives entre les proportions de résistances des souches de *Streptococcus uberis* étudiées à Saint Symphorien et par le RESAPATH. Les souches étudiées à Saint Symphorien sont significativement plus résistantes à l'oxacilline que celles étudiées par le RESAPATH.

➤ Pour *Streptococcus dysgalactiae*

Concernant l'érythromycine et la lincomycine, il n'existe pas de différences significatives entre les proportions de résistances des souches de *Streptococcus dysgalactiae* étudiées à Saint Symphorien et par le RESAPATH. Les souches étudiées à Saint Symphorien sont significativement plus résistantes à l'oxacilline que celles étudiées par le RESAPATH. Les souches étudiées à Saint Symphorien sont significativement moins résistantes aux tétracyclines que celles étudiées par le RESAPATH.

De manière générale, nous pouvons observer que les proportions de résistances à la gentamycine, à l'association sulfamide triméthoprime, à la pirlymicine et à la pénicilline ne sont jamais significativement différentes entre nos deux populations quel que soit le pathogène testé. Au contraire, concernant la néomycine, l'amoxicilline, l'oxacilline, la céfoxitine et la cefquinome, les bactéries étudiées, quelle que soit leur espèce, sont significativement plus résistantes à ces antibiotiques que celles dont l'antibiorésistance est rapportée dans le RESAPATH. De plus, nous remarquons qu'à l'exception de la tétracycline, les résistances sont significativement plus présentes au sein des bactéries de Saint Symphorien qu'au sein du RESAPATH.



## IV. Discussion

Dans cette partie, nous analyserons la réalisation de cette étude ainsi que ses résultats.

### A. Témoignages des vétérinaires sur la réalisation des analyses en clinique

Les vétérinaires de la clinique de Saint Symphorien sur Coise réalisent leurs analyses de lait au cabinet depuis 2016. Pour eux, l'intérêt de les faire eux-mêmes est multiple. Tout d'abord, les prix proposés ainsi que les délais d'obtention des résultats sont moindres pour les éleveurs : une bactériologie est facturée 18,76 euros hors taxe, un antibiogramme 21,98 euros et lorsque le prélèvement revient stérile ou polycontaminé, seulement 13,40 euros sont facturés. D'après eux, cela encourage les éleveurs à réaliser ces analyses. Ensuite, la réalisation mais surtout l'interprétation des analyses ayant lieu au cabinet, cela favorise la discussion entre les vétérinaires et les éleveurs. Les éleveurs sont donc plus enclins à mettre en place un traitement ciblé plutôt qu'un traitement probabiliste. Des bilans annuels sont également réalisés permettant de mettre en avant les points à améliorer. Ces analyses peuvent aussi s'intégrer dans des services plus larges tels que des plans cellules ou des visites de traite. Enfin, d'un point de vue plus personnel des vétérinaires, cela les encourage à continuer une auto-formation et à se renseigner sur les actualités concernant la qualité du lait.

### B. Résultats

#### ➤ Sensibilité de la méthode

Sur le total des 612 analyses réalisées, l'agent pathogène a été identifié dans 77% des cas, ce qui témoigne d'une sensibilité correcte de la méthode. En effet, dans la littérature, on rapporte 10 à 30% de cas de mammite avec un résultat négatif en bactériologie réalisée dans un laboratoire spécialisé, et couramment cette sensibilité est moindre en cabinet vétérinaire. Or, ici nous avons seulement 23% de résultats négatifs. La sensibilité des bactériologies réalisées à Saint Symphorien est donc aussi bonne que celles réalisées en laboratoire. De plus, nous ne retrouvons que 3% de prélèvements polycontaminés, ce qui témoignent d'une bonne formation et d'une bonne implication des éleveurs lors du prélèvement. Enfin, parmi les 20%

de prélèvements stériles, il ne faut pas oublier que certaines vaches avaient reçu préalablement au prélèvement de lait un traitement antibiotique, ce qui pourrait expliquer l'absence de pousse bactérienne.

➤ **Prévalence des pathogènes**

Concernant les pathogènes identifiés à Saint Symphorien sur Coise, on retrouve dans 39% des bactériologies effectuées un staphylocoque à coagulase négatif, responsable de mammites subcliniques. Dans une moindre mesure, on retrouve les streptocoques, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Les autres pathogènes sont identifiés très rarement. Cette répartition des pathogènes est significativement différente de celle du RESAPATH : les trois principaux pathogènes identifiés sont *Escherichia coli*, puis les streptocoques et enfin les staphylocoques à coagulase négative. On remarque surtout de grandes variations entre les valeurs obtenues concernant *Escherichia coli*, les staphylocoques à coagulase négative et les entérocoques. A Saint Symphorien, on remarque que la quantité d'*Escherichia coli* détectée est bien inférieure à celle du RESAPATH au contraire des staphylocoques à coagulase négative. Nous expliquons ces importantes variations en partie par les pratiques spécifiques des vétérinaires. En effet, il est répandu d'utiliser un antibiotique critique sur les mammites à *Escherichia coli*. Cependant, cela nécessite un antibiogramme réalisé selon les normes AFNOR, donc souvent en laboratoire car peu de cliniques sont accréditées. Cela peut contribuer au fait que les analyses les plus souvent répertoriées par le RESAPATH portent sur *Escherichia coli*. Au contraire, les vétérinaires de Saint Symphorien sur Coise ont une politique différente quant à l'utilisation des antibiotiques critiques qu'ils n'utilisent que dans de très rares cas. Ils auront tendance à conseiller la réforme pour une vache atteinte d'une mammite à *Escherichia coli* multirésistant. Leur approche se base plus sur la prévention et la gestion des mammites subcliniques, ce qui peut expliquer le nombre important de staphylocoques à coagulase négative détectés.

➤ **Evolution des résistances à travers l'exemple des staphylocoques à coagulase négative**

Nous avons étudié l'évolution des résistances uniquement sur les staphylocoques à coagulase négative car nous avons trop peu de données concernant les autres pathogènes pour espérer obtenir des résultats intéressants. Nous avons pris en compte les résistances uniquement aux antibiotiques pour lesquels nous avons des données sur plusieurs années consécutives. Nous observons globalement un maintien du taux de résistance entre 2018 et 2021. Cependant, nous observons une diminution de la sensibilité aux six antibiotiques testés au cours de l'année 2022. Cette observation est à nuancer du fait que nous n'avons pas les résultats d'antibiogrammes sur l'année entière, mais seulement jusqu'au mois d'août. Nous avons donc globalement moins d'analyses sur l'année 2022, et nous pensons que cela peut jouer sur l'impression d'augmentation des résistances. Les résultats que nous obtenons, c'est-à-dire une diminution de la sensibilité sur les cinq dernières années, ne sont pas similaires à la tendance nationale (donnée par le RESAPATH) qui voit diminuer légèrement le taux de résistance des staphylocoques à coagulase négative pour ces antibiotiques.

➤ **Profils de résistance des pathogènes identifiés**

Concernant *Escherichia coli*, hormis une forte résistance à l'amoxicilline et à la néomycine, la majorité des souches testées sont sensibles aux autres antibiotiques, et notamment à l'association sulfamide et triméthoprim (dans 84% des cas), qui est l'antibiotique de choix lors d'une mammite coliforme.

Les souches étudiées à Saint Symphorien présentent des profils de résistances différents en majeure partie de celles du RESAPATH. On observe notamment une faible sensibilité de la majorité des souches testées à Saint Symphorien aux bêta-lactamines. De manière générale, les souches testées à Saint Symphorien sont significativement plus résistantes que celles testées par le RESAPATH. Lorsque les antibiogrammes révèlent des souches multirésistantes, les vétérinaires conseillent la réforme pour éviter les récives mais aussi la propagation de bactéries multirésistantes et la contamination des autres individus.

Les vétérinaires de Saint Symphorien sur Coise se basaient jusqu'alors sur le RESAPATH pour leur prescription lorsqu'ils n'avaient pas la possibilité de réaliser d'antibiogrammes. Ils

pourront dorénavant se baser sur les statistiques établies dans cette étude qui refléteront plus exactement les profils de résistance de leur clientèle. Cependant, il est important de noter que pour certains pathogènes, nous n'avons que très peu d'antibiogrammes réalisés : parfois un antibiotique donné n'a été testé que sur une ou deux souches. Il est alors difficile de conclure quant au profil de sensibilité de ce pathogène par rapport à l'antibiotique étudié sur l'ensemble de la clientèle. Par exemple, deux souches de *Streptococcus bovis* ont été identifiées et testées. Elles sont toutes deux sensibles aux six antibiotiques testés. Cependant, il semble imprudent de se dire que tous les *Streptococcus bovis* de la clientèle sont sensibles à ces antibiotiques.

### C. Avantages de l'étude

Cette étude réalisée sur cinq ans porte sur des cas de mammites de plusieurs centaines de vaches traitées par les vétérinaires de Saint Symphorien sur Coise. Cette étude se base sur un total de 612 analyses bactériologiques et l'étude de l'antibiorésistance des bactéries isolées est basée sur un ensemble de 425 antibiogrammes. Cela représente un échantillonnage important.

Toutes les analyses ont été réalisées au sein du cabinet de Saint Symphorien sur Coise, avec le même protocole standardisé. De plus, les résultats sont tous reportés de la même manière sur un fichier informatique. On a donc une bonne uniformisation des analyses.

Concernant la partie où nous comparons les résultats obtenus au cours de notre étude à ceux du RESAPATH, nous avons pris soin d'étudier les résultats sur la même chronologie, c'est-à-dire de 2018 à 2021. De plus, nous avons comparé uniquement les résistances aux antibiotiques pour lesquelles nous avons, soit des données dans les deux populations, soit des résistances croisées. Cela a donc permis d'avoir le moins de variabilité possible en dehors des critères que nous voulons étudier.

Enfin, un des avantages non négligeables de notre étude est qu'elle s'ancre dans une problématique actuelle. De plus, la majorité des études portant sur l'analyse de l'antibiorésistance des germes mammaires sont nationales, on ne retrouve que très peu

d'études à un niveau régional. L'avantage de notre étude est qu'elle analyse les résistances d'une seule clientèle.

#### D. Limites de l'étude

La première limite de l'étude est un biais de sélection indépendant de notre volonté. En effet, tous les éleveurs ne procèdent pas de la même manière face aux mammites. Certains prélèvent le lait modifié ou appelle le vétérinaire de manière systématique avant tout traitement dans le but de réaliser des analyses bactériologiques alors que certains ne réalisent ces analyses qu'en cas de récurrence. Les résultats obtenus ne sont donc pas parfaitement représentatifs de l'ensemble des mammites rencontrées sur cette clientèle.

La deuxième limite de notre étude est le manque d'information sur certaines analyses. Les commémoratifs ainsi que certaines informations sur le traitement conseillé ne sont pas systématiquement reportés sur le compte rendu numérique. De plus, nous n'avons aucune information sur l'observance ainsi que sur la réussite du traitement. Au vu de ces absences, nous avons fait le choix de ne pas analyser les traitements prescrits lorsque nous avons l'information. Cependant, il aurait été intéressant de connaître et d'analyser les succès et échecs thérapeutiques pour mettre en avant l'intérêt de la réalisation d'antibiogrammes et donc d'un traitement adapté.

Enfin, concernant la partie où nous avons comparé les résultats obtenus à la clinique aux résultats du RESAPATH, la principale limite est l'inégalité du nombre d'analyses entre ces deux bases de données. Il faut donc être prudent sur l'interprétation des résultats notamment d'antibiorésistance, car pour certains antibiotiques nous n'avons parfois qu'un seul résultat d'analyse sur une seule souche bactérienne.



## CONCLUSION

Après avoir dressé un état des lieux des connaissances sur les mammites bovines, leur étiologie, leur diagnostic et les différents traitements utilisables, nous avons discuté des résistances bactériennes aux antibiotiques couramment utilisés et de l'implication de ces résistances sur la santé humaine, animale et pour la guérison des animaux. Nous avons dans un deuxième temps présenté les intérêts ainsi que les inconvénients de la réalisation d'analyses bactériologiques en cabinet vétérinaire, et nous avons présenté les différentes méthodes accessibles en cabinet pour la réalisation de ces analyses. Enfin, dans un dernier temps, nous avons analysé les résultats bactériologiques du cabinet de Saint Symphorien sur Coise, que nous avons comparés à ceux du RESAPATH.

Les mammites bovines sont principalement dues à des agents bactériens. Pour déterminer quel agent est en cause, il est possible de s'appuyer sur la clinique de l'animal, mais il est indispensable de réaliser un diagnostic précis pour mettre en place un traitement adapté.

Au vu de l'importance de cette pathologie en élevage et des atteintes sociétales en termes de réduction de l'utilisation d'antibiotiques, de nombreux outils se développent dans le but d'aider à la détermination de l'agent pathogène, mais aussi pour déterminer et suivre les résistances bactériennes aux antibiotiques utilisés.

La mise en place d'un laboratoire de bactériologie au cabinet est facile et peu coûteuse, et apporte un avantage considérable pour l'éleveur et le vétérinaire dans la lutte contre les mammites bovines.

Le suivi des analyses bactériologiques du cabinet de Saint Symphorien sur Coise nous montre l'intérêt de ses examens, qui permettent d'adapter le traitement et les conseils à donner à l'éleveur en fonction des résultats. De plus, cette étude nous montre l'importance d'une analyse locale, car la répartition des agents pathogènes ainsi que de leurs résistances sont significativement différentes des données obtenues par le RESAPATH sur cette même période.





## BIBLIOGRAPHIE

1. VERGONJEANNE R. (2014) [Mammites] L'impact économique atteint 230 €/vache/an. Web-agri.fr.  
Disponible sur : <https://www.web-agri.fr/mammites/article/97330/l-impact-economique-atteint-230-vache-an> [consulté le 30 nov 2022]
2. MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORET. (2017) Ecoantibio2, plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire - 2017-2022.
3. COBIRKA M, TANCIN V, SLAMA P. (2020). Epidemiology and Classification of Mastitis. *Animals*. 10 (12), pp. 2212.
4. SHARUN K, DHAMA K, TIWARI R, GUGJOO MB, IQBAL YATOO MOHD, PATEL SK, ET AL. (2021). Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *Vet Q*. 41 (1), pp. 107-136.
5. DESCOTEAUX L. (2004) La mammite clinique : stratégies d'intervention. *Symposium sur les bovins laitiers*.
6. BHAKAT C. (2019) Low Cost Management Practices to Detect and Control Sub-Clinical Mastitis in Dairy Cattle. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8 (5), pp. 1958-1964.
7. Réseau canadien de recherche sur la mammite bovine et la qualité du lait (RCRMBQL) [Internet]. Réseau mammite.  
Disponible sur: [http://www.reseaumammite.org/bacteries\\_mammite/](http://www.reseaumammite.org/bacteries_mammite/) [consulté le 30 nov 2022].
8. LE GRAND D, ARCANGIOLI MA, GIRAUD N, POUMARAT F, BEZILLE, BERGONIER D. Conduite à tenir face à des mammites à mycoplasmes. *Le Point Vétérinaire 2004*, 35(245) : 34-37.
9. REYHER KK, HAINE D, DOHOO IR, REVIE CW. (2012). Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens—A systematic review and meta-analysis. *Journal of Dairy Science*. 95(11), pp. 6483-6502.
10. DALANEZI FM, JOAQUIM SF, GUIMARÃES FF, GUERRA ST, LOPES BC, SCHMIDT EMS, ET AL. (2020). Influence of pathogens causing clinical mastitis on reproductive variables of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 103(4), pp. 3648-3655.
11. VON TAVEL L. Les mammites chez les génisses. *Swissgenetics*.
12. REMY D. (2011). Les mammites infectieuses chez les bovins : méthodes diagnostiques. *Le point vétérinaire rural*, 11.
13. DUREL L. et al. (2003). Mammites des bovins (cliniques et subcliniques) : démarches diagnostiques et thérapeutiques. *La dépêche technique*, 87, pp. 39.
14. LABBE JF. (2019) Détection des mammites chez la vache laitière hors bactériologie : paramètres utilisables et choix des tests. *Bulletin des GTV*, 95, pp 51-58.

15. LEQUEUX G, BERGONIER D. (2019) Diagnostic bactériologique des mammites bovines au laboratoire. Partie 1 : diagnostic par culture bactérienne. *Bulletin des GTV*, 95 pp. 23-24.
16. LE PAGE P, POUTREL B. (2019) Diagnostic bactériologique à la clinique : techniques, bonnes pratiques, faisabilité, avantages et limites. *Bulletin des GTV*, 95, pp. 45-50.
17. LEQUEUX G, BERGONIER D. (2019) Diagnostic bactériologique des mammites au laboratoire Partie 2 : diagnostic par PCR. *Bulletin des GTV*, 95, pp. 35-44.
18. BENOIT F, PITEL PH, MAILLARD K. (2019) L'antibiogramme en pathologie mammaire. *Bulletin des GTV*, 95, pp. 65-70.
19. ERSKINE RJ, WAGNER S, DEGRAVES FJ. (2003) Mastitis therapy and pharmacology. *Veterinary Clinics of North America : Food Animal Practice*, 19, pp. 109-138.
20. BOUSQUET-MELOU A. (2019) Traitement antibiotique des mammites : caractéristiques pharmacocinétiques des traitements par voie locale ou générale. *Bulletin des GTV*, 95, pp.71-76.
21. COLLECTIF. (2020) Dictionnaire des médicaments vétérinaires et des produits de santé animale (DMV). 2980 p.
22. LE PAGE P. (2014) Traitement et prévention des mammites bovines : actualités. *La dépêche technique*, 136, 39p.
23. WELLNITZ O, WALL SK, SAUDENOVA M, BRUCKMAIER RM. (2014) Effect of intramammary administration of prednisolone on the blood-milk barrier during the immune response of the mammary gland to lipopolysaccharide. *Am J Vet Res.*, 75, pp. 595-601.
24. LOHUIS JACM, VAN LEEUWEN W, VERHEIJDEN JHM, BRAND A, VAN MIERT ASJPAM. (1989) Effect of Steroidal Anti-Inflammatory Drugs on Escherichia coli Endotoxin-Induced Mastitis in the Cow. *Journal of Dairy Science*, 72, pp. 241-249.
25. PETERSSON-WOLFE CS, LESLIE KE, SWARTZ TH. (2018) An Update on the Effect of Clinical Mastitis on the Welfare of Dairy Cows and Potential Therapies. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 34, pp. 525-535.
26. SINTES GF, BRUCKMAIER RM, WELLNITZ O. (2020) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs affect the mammary epithelial barrier during inflammation. *Journal of Dairy Science*. 103, pp. 10742-10753.
27. GOIS C. (2021). Utilisation comparée des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens chez les bovins : analyse des recommandations et de la pratique. Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon : Université Claude Bernard, 90p.
28. LE PETIT ROBERT (2021). Dictionnaire alphabétique et analogique de la langue français. Paris.
29. "règlement (UE) n° 37/2010 de la commission du 22 décembre 2009 relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale".

Disponible sur : <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2010R0037:20120409:FR:PDF> [cité 21 juill 2023].

30. FRANCOZ D, WELLEMANS V, DUPRE JP, ROY JP, LABELLE F, LACASSE P, ET AL. (2017) Invited review: A systematic review and qualitative analysis of treatments other than conventional antimicrobials for clinical mastitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 100, pp. 7751-7770.
31. DUREL L, GUYOT H, THERON L. (2012). Vademecum des mammites bovines. Medcom. 272 p.
32. FUENZALIDA MJ, RUEGG PL. (2019). Negatively controlled, randomized clinical trial to evaluate intramammary treatment of nonsevere, gram-negative clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*. 102, pp. 5438-5457.
33. RUEGG PL. (2018). Making Antibiotic Treatment Decisions for Clinical Mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 34, pp. 413-425.
34. SALAT O. Antibiothérapie des infections mammaires à coliformes. In : JNGTV (2022). Proceeding JNGTV 2022, 18-20 mai 2022, Nantes. 652p.
35. FORTINEAU O, BASTIEN J. Réunion de consensus sur le traitement des mammites sévères. In : JNGTV (2023). Proceeding JNGTV 2023, 24-26 mai 2023, Poitiers. 693p.
36. ERSKINE RJ, WAGNER S, DEGRAVES FJ. (2003). Mastitis therapy and pharmacology. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 19(1), pp. 109-138.
37. ROUSSEL P. (2017). Traitements intramammaires au tarissement chez la vache laitière. *Bulletin des GTV*, 86. pp. 39-43.
38. INSERM (2019). Programme prioritaire de recherche, Antibiorésistance. 84p. [en ligne].  
 Disponible sur : <https://www.inserm.fr/wp-content/uploads/2020-01/inserm-prantibioresistance.pdf> [consulté le 13 mars 2023].
39. SCHWARZ S, LOEFFLER A, KADLEC K. (2017). Bacterial resistance to antimicrobial agents and its impact on veterinary and human medicine. *Vet Dermatol*, 28. pp. 82-119.
40. OMSA - Organisation mondiale de la santé animale. (2020). Une seule santé.  
 Disponible sur : <https://www.woah.org/fr/ce-que-nous-faisons/initiatives-mondiales/une-seule-sante/> [consulté le 14 mars 2023]
41. INRAE Institutionnel. (2020). One Health, une seule santé.  
 Disponible sur : <https://www.inrae.fr/alimentation-sante-globale/one-health-seule-sante> [consulté le 14 mars 2023]
42. OMSA - Organisation mondiale de la santé animale. (2020). Résistance aux antibiotiques.  
 Disponible sur : <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> [consulté le 14 mars 2023].
43. SERNA C, GONZALEZ-ZORN B. (2022). Antimicrobial resistance and One Health. *Rev Esp Quimioter*, 35 (Suppl 3). pp. 37-40.
44. CGAAER. (2022). Rapport n° 21064 : Evaluation des plans Ecoantibio et appui à la préparation du troisième. 162p.

45. MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORET (2016). Le plan Ecoantibio 2012-2016. Synthèse et principales réalisations. 24p.
46. RESAPATH (2022). Bilan 2021 [Internet].  
 Disponible sur : [https://resapath.anses.fr/resapath\\_uploadfiles/files/Documents/Rapport%20annuel/2021\\_Resapath\\_Rapport\\_annuel\\_FR.pdf](https://resapath.anses.fr/resapath_uploadfiles/files/Documents/Rapport%20annuel/2021_Resapath_Rapport_annuel_FR.pdf) [consulté le 15 mars 2023].
47. RESAPATH online. Disponible sur : <https://shiny-public.anses.fr/resapath2/> [consulté le 15 mars 2023].
48. JULIEN C. (2022). L'obturateur plus efficace que l'antibiotique face au risque de mammite. Web-agri.fr [En ligne].  
 Disponible sur : <https://www.web-agri.fr/tarissement/article/221690/l-obturateur-plus-efficace-que-l-antibiotique-face-au-risque-de-mammite-> [consulté le 15 mars 2023]
49. GUARDABASSI L, APLEY M, OLSEN JE, TOUTAIN PL, WEESE S. (2018). Optimization of Antimicrobial Treatment to Minimize Resistance Selection. *Microbiol Spectr.* 6 (3), 36 p.
50. GAY ET AL E. (2002). Modalités de traitement des mammites cliniques en élevage bovin laitier en France. *Rencontres, Recherches, Ruminants*, 9, pp. 37-40.
51. BERGONIER D. (2020). Impact du traitement des mammites sur l'antibiorésistance et les microbiotes. *Bulletin des GTV*, numéro spécial : antibiothérapie, pp. 57-64.
52. BOIREAU C, CAZEAU G, JARRIGE N, CALAVAS D, MADEC JY, LEBLOND A, ET AL. (2018). Antimicrobial resistance in bacteria isolated from mastitis in dairy cattle in France, 2006-2016. *J Dairy Sci.* 101(10), pp. 9451-9462.
53. SERGELIDIS D, ANGELIDIS A. (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : a controversial food-borne pathogen. *Letters in Applied Microbiology.* 64 (6), pp. 409-418.
54. REHMAN S, WIDODO A, RAMANDINIANTO S, SUDJARWO S, EFFENDI M. (2022). Profile of Multidrug Resistance and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on dairy cows and risk factors from farmer. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity.* 23, pp. 2853-2858.
55. AVELIN C. (2022). Consommation de produits laitiers en 2021. 110p. [en ligne].  
 Disponible sur : <https://www.franceagrimer.fr/fam/content/download/69208/document/STA-LAI-Consommation%20de%20produits%20laitiers%20en%202021.pdf?version=1> [consulté le 16 juill 2023].
56. HARWOOD WS, DRAKE MA. (2018). Identification and characterization of fluid milk consumer groups. *Journal of Dairy Science.* 101(10), pp. 8860-8874.
57. BULUT E, STOUT A, WEMETTE M, LLANOS-SOTO S, SCHELL RC, GREINER SAFI A, ET AL. (2021). How does public perception of antibiotic use on dairy farms contribute to self-reported purchasing of organic ? *J Food Sci.* 86(5), pp. 2045-2060.

58. MATHEVET P. Les enjeux de la vente de service en clientèles rurales. In : JNGTV (2020). Proceeding JNGTV 2020,28-30 octobre 2020, Poitiers. 708p.
59. GRANDS TROUPEAUX MAGAZINE. (2019). Le vétérinaire : la référence technique des éleveurs. *Grands Troupeaux Magazine*, (72), pp. 1-8.
60. RABOISSON D, FERCHIOU A, PINIOR B, GAUTIER T, SANS P, LHERMIE G. (2020). The Use of Meta-Analysis for the Measurement of Animal Disease Burden: Losses Due to Clinical Mastitis as an Example [en ligne]. *Frontiers in Veterinary Science*, 7.  
  
Disponible sur : <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2020.00149> [consulté le 17 mars 2023]
61. RABOISSON D, FERCHIOU A, ROBCIS R, LHERMIE G. (2022). L'économie de la qualité du lait, coûts et stratégies. *néva : Le Nouveau Praticien Vétérinaire élevages et santé*, hors-série : lutte contre les infections mammaires. pp. 45-50.
62. MILNER P, PAGE KL, HILLERTON JE. (1997). The effects of early antibiotic treatment following diagnosis of mastitis detected by a change in the electrical conductivity of milk. *J Dairy Sci.* 80 (5), pp. 859-863.
63. SALAT O, LEMAIRE G. Thérapeutique des infections mammaires à *Staphylococcus aureus*. In : JNGTV (2021). Proceeding JNGTV 2021, 20-22 octobre 2021, Tours. 736p.
64. "article R.5141-117. Décret n° 2016-317 du 16 mars 2016 relatif à la prescription et à la délivrance des médicaments utilisés en médecine vétérinaire contenant une ou plusieurs substances antibiotiques d'importance critique" [en ligne].  
  
Disponible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000032251629> [consulté le 23 mars 2023].
65. BERGONIER D. Le diagnostic bactériologique des mammites bovines : partie 1 : fondamentaux et diagnostic bactériologique en laboratoire.  
  
Disponible sur : <https://www.pathobetonline.fr/?p=theme&t=fichier&cat=6> [consulté le 24 mars 2023]
66. MATHEVET P. Les enjeux de la vente de service en clientèles rurales. In : JNGTV (2020). Proceeding JNGTV 2020,28-30 octobre 2020, Poitiers. 708p.
67. KERN-BENAIBOUT E, SALAT O. Antibiothérapie des mammites peu sévères. In : JNGTV (2022). Proceeding JNGTV 2022, 18-20 mai 2022, Nantes. 652p.
68. SCHMITT-VAN DE LEEMPUT E, SALAT O. (2005). Antibiothérapie raisonnée lors de mammites aiguës. *Le point vétérinaire*, 252.
69. BIOMERIEUX FRANCE [Internet]. Milieux de Culture.  
  
Disponible sur: <https://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/milieux-de-culture> [consulté le 20 juill 2023].
70. SNGTV [Internet]. Initiation à l'analyse actériologique de lait en établissement de soins vétérinaires (PATHO 12) – Applications pratiques.

Disponible sur: <https://www2.sngtv.org/formation/initiation-a-lanalyse-bacteriologique-de-lait-en-etablissement-de-soins-veterinaires-patho-12-applications-pratiques/> [consulté le 21 juill 2023]

71. SALAT O, LEQUEUX G, HERMAN N. (2022). Concordance entre sensibilité in vitro et réussite du traitement des mammites bovines. *Bulletin des GTV*, 108, pp. 47-57.
72. LEQUEUX G, LOISY V, VAN EECKHOUT T. Les CMI ont-elles une signification pour le lait ? Quelques données à partir d'une étude in vitro. In : JNGTV (2023). Proceeding JNGTV 2023, 24-26 mai 2023, Poitiers. 693p.
73. DUDRIKOVA E, SOKOL J, BURDOVA O, TUREK P, CABADAJ R. (1996). Oxytetracycline in the milk of dairy cows with clinical signs of mastitis during the lactation period. *Vet Med (Praha)*. 41 (11), pp. 329-333.
74. VIEL A, SANDERS P. Pharmacocinétique des antibiotiques dans la mamelle : les concentrations efficaces sont-elles atteintes dans les différents compartiments ? In : JNGTV (2023). Proceeding JNGTV 2023, 24-26 mai 2023, Poitiers. 693p.
75. DOERN GV, BRECHER SM. (2011). The Clinical Predictive Value (or Lack Thereof) of the Results of In Vitro Antimicrobial Susceptibility Tests. *J Clin Microbiol*. 49 (9 Suppl), pp. 11-14.
76. FAROULT B, PAGE P. (2006). Technique de prélèvement aseptique de lait. *Bulletin des GTV*, 33, pp. 28-29.
77. POUTREL B. (2008). Prélever du lait pour rechercher *Staphylococcus aureus*. *Le Point Vétérinaire*, 283.
78. BRARD F. (2018). Guide pratique de réalisation des analyses bactériologiques. *Boehringer Ingelheim*. 23 p.
79. SCHMITT-VAN DE LEEMPUT E, SCHMITT-BEURRIER A. (2005). Bactériologie sur le lait en clientèle. *Le Point Vétérinaire*, 255, pp. 52-53.
80. SALAT O, LEMAIRE G. Les tests rapides d'identification bactérienne dans le lait. In : JNGTV (2023). Proceeding JNGTV 2023, 24-26 mai 2023, Poitiers. 693p.
81. KARLESKIND A. (2019). Les kits de diagnostic rapide en bactériologie chez les ruminants : états des lieux, intérêts et limites pour le praticien. Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon : Université Claude Bernard, 176 p.
82. VETOQUINOL. Vektorapid : le diagnostic 3 en 1 : aide à l'interprétation des résultats. 7p. [en ligne]

Disponible sur : <https://www.vetoquinol.com/fr/vektorapid/diagnosis> [consulté le 28 août 2023]

83. MILARD C, CHATAIGNER B, MARCHAND S, MONTAGNE P. (2016). Evaluation of the chromID® CPS® Elite media for bovine mastitis diagnosis. Poster.

Disponible sur :  
([https://www.biomerieux.co.uk/sites/subsidiary\\_uk/files/poster\\_final\\_version\\_20072016.pdf](https://www.biomerieux.co.uk/sites/subsidiary_uk/files/poster_final_version_20072016.pdf))  
[Consulté le 26 avril 2023].

84. GRIFFIOEN K, VELTHUIS AGJ, LAGERWERF LA, HEUVELINK AE, LAM TJGM. (2018). Agreement between four commercial diagnostic tests and routine bacteriological culture of milk to determine the udder infection status of dairy cows. *Prev Vet Med.* 157, pp. 162-173.
85. DUREL L, POUTREL B. (2006). Le diagnostic bactériologique des mammites par le vétérinaire praticien : solutions pratiques et limites. *Bulletin des GTV.* 33, pp. 43-53.
86. CUVILLIER D. Présentation du Vetscan Mastigram. Présentation Zoetis. In : JNGTV (2023). 24-26 mai 2023, Poitiers.
87. SAILA S, BORK O, TUCKER IG, CRANFIELD S, BRYAN MA. (2023). Evaluation of an on-farm culture system for the detection of subclinical mastitis pathogens in dairy cattle. *JDS Commun.* 4, pp. 298-302.
88. VETOQUINOL (2020). Guide de l'utilisateur du Mastatest.
89. SCHMITT-VAN DE LEEMPUT E. (2013). Recours à la PCR multiplex en clientèle et comparaison à la culture bactérienne sur le lait. *Le Point Vétérinaire*, 334, pp. 56-61.
90. Kits PathoProof<sup>TM</sup> Mastitis Complete-16 [en ligne].  
Disponible sur: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/fr/fr/PF1600L> [consulté le 13 sept 2023].
91. SPITTEL S, HOEDEMAKER M. (2012). Mastitis diagnosis in dairy cows using PathoProof real-time polymerase chain reaction assay in comparison with conventional bacterial culture in a Northern German field study. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 125, pp. 494-502.
92. NORMES FRANCAISES ET EUROPEENNES (2012). Méthode d'analyse en santé animale : guide de réalisation des antibiogrammes par la méthode de diffusion en milieu gélosé. *NF U 47-107.*
93. COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE. (2023) Recommandations vétérinaires 2023. 15p.
94. COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE. (Juin 2023). Recommandations 2023 V.1.0 juin. 177p.
95. ZANAROTTI V. (2021). L'antibiogramme en médecine vétérinaire rurale : utile, indispensable ou superflu ? Le guide du praticien en médecine des animaux de production. Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon : Université Claude Bernard, 110 p.
96. Virbac England - Speed Mam color [en ligne].  
Disponible sur : <https://bvt.virbac.com/home/diagnostic-solutions/pour-le-veterinaire-praticien/produit-1/main/produits/speed-mam-color-1.html> [consulté le 3 oct 2023].
97. VAN EECKHOUT T. (2023). Entretien sur les anneaux antibiotiques de DECHRA.
98. DECHRA. (2020) Anneaux antibiotiques : instructions.
99. SALAT O, LEMAIRE G, CHALIER M. Un nouvel outil automatisé pour l'analyse bactériologique de lait : Mastatest. In : JNGTV (2022). Proceeding JNGTV 2022, 18-20 mai 2022, Nantes. 652p.

100. MADEC JY. (2009). Les méthodes d'évaluation de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. *Bulletin des GTV*, 49, pp. 49-54.
101. JOLY-GUILLOU ML. (2004). Intérêt du E-Test dans le suivi de l'antibiothérapie. *Journal Réanimation*, Note technique, 15. 4p.
102. HAENNI M, GALOFARO L, YTHIER M, GIDDEY M, MAJCHERCZYK P, MOREILLON P, ET AL. (2010). Penicillin-Binding Protein Gene Alterations in *Streptococcus uberis* Isolates Presenting Decreased Susceptibility to Penicillin. *Antimicrob Agents Chemother.* 54, pp. 1140-1145.



## ANNEXES

**Annexe 1** : fiche explicative sur le prélèvement aseptique de lait (Boehringer Ingelheim)



# Prélèvement aseptique de lait

Fiche pratique

**Le prélèvement repose sur des gestes simples mais précis. La rigueur de la réalisation de ces gestes garantit la qualité du prélèvement.**

**Matériels nécessaires :**

- Pots de prélèvement stériles
- Gants d'examen
- Coton hydrophile + alcool à 70°
- Papier absorbant
- Feutre indélébile
- Glacière et pains de glace

Avant de procéder au prélèvement, il convient de nettoyer puis de désinfecter correctement le trayon.



**● Nettoyage**

- Lavette imprégnée d'eau savonneuse,
- Essuyage avec du papier absorbant,
- Renouveler tant que le papier n'est pas propre.

**● Désinfection**

- Mettre des gants,
- Désinfecter le trayon à l'aide d'un coton imprégné d'alcool à 70° OU d'une lingette désinfectante, en insistant tout particulièrement sur le sphincter.

Parlez-en à votre vétérinaire



Boehringer Ingelheim

## Technique de prélèvement

Les indications sont données pour les droitiers, si vous êtes gaucher(ère), vous pouvez les inverser.

1

Tenir le pot de prélèvement horizontalement dans la main gauche pendant que la main droite dévisse le bouchon.



2

Placer immédiatement le bouchon à l'horizontale entre le pouce et l'index de la main gauche de façon à protéger l'ouverture d'une pollution accidentelle.



3

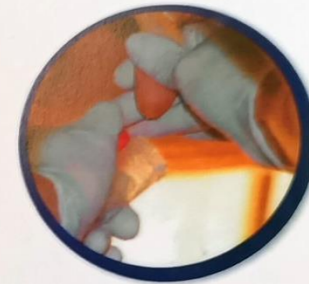
Éliminer les premiers jets sur le sol avec la main droite.



4

Diriger deux ou trois jets dans le pot de prélèvement maintenu horizontalement.

Il n'est pas nécessaire de prélever beaucoup de lait pour effectuer une analyse bactériologique.



5

Reboucher le pot immédiatement.



6

Identifier le prélèvement clairement avec un feutre indélébile (n° de l'animal et quartier prélevé).

S'il doit être stocké en échantillonnage, inscrire également la date de prélèvement.



7

Placer aussitôt le prélèvement dans une glacière.

L'envoi et la mise en culture au laboratoire doivent se faire sous 48 h.

Le prélèvement peut être congelé pour une analyse ultérieure.



- Le prélèvement doit être accompagné d'une feuille de commémoratifs.
- Lors de prélèvements de plusieurs quartiers sur la même vache, la phase de nettoyage désinfection se réalise en commençant par les quartiers les plus éloignés et la phase de prélèvement se fera dans l'ordre inverse.

Par Bertrand Faroult et Philippe Le Page  
commission Qualité du lait de la SNGTV

Parlez-en à votre vétérinaire



Boehringer  
Ingelheim

**Annexe 2 :** Utilisation et résultats du test du khi2 ou du test de Fischer pour comparer la sensibilité aux antibiotiques des différentes bactéries

	Escherichia coli	Klebsiella spp	Serratia spp	Staph. coag neg	Staph. aureus	Strepto. uberis	Strepto. dysgalactiae
Tétracycline	<i>0,3504</i>	<b>0,1068</b>	<b>0,04784</b>	<b>0,0006718</b>	<i>1</i>	<b>0,4418</b>	<b>0,00121</b>
Néomycine	<b>5,99E-14</b>	<b>9,73E-05</b>	<b>0,002639</b>				
Gentamycine							
Sulfamide TMPS	<b>0,582</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>			
Erythromycine				<i>2,2E-16</i>	<i>0,001162</i>	<i>0,473</i>	<b>0,5706</b>
Pirlymicine				<i>0,1274</i>	<i>0,3937</i>		
Clindamycine/ lincomycine				<i>0,428</i>	<i>0,04974</i>	<i>0,3645</i>	<i>0,6078</i>
Pénicilline				<i>0,00767</i>	<b>0,7727</b>		
Amoxicilline	<i>9,40E-08</i>						
Oxacilline						<b>2,38E-09</b>	<i>2,20E-16</i>
Céfoxitine				<i>2,20E-16</i>	<i>4,22E-09</i>		
<b>Cefquinome</b>	<b>0,0002315</b>						
<b>Acide nalixinique</b>	<b>0,004911</b>	<b>1</b>	<b>1</b>				

Remarque : en **noir et en gras** les résultats obtenus avec le test du khi2 et *en orange et en italique* les résultats obtenus avec le test de Fischer.





# INTERET DE LA REALISATION DU DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE EN CABINET POUR LES MAMMITES : ANALYSES DES RESULTATS DU CABINET DE SAINT SYMPHORIEN SUR COISE

---

Auteur

---

BOREL Anne

Résumé

---

Les mammites sont une des affections principales retrouvées dans les élevages laitiers. La lutte contre ces mammites repose sur de la prévention et sur leur traitement, qui se fonde essentiellement sur l'utilisation d'antibiotiques. Dans un contexte actuel où l'enjeu est à la réduction de l'utilisation des antibiotiques et au contrôle de l'antibiorésistance, des outils d'aide à l'analyse du lait se sont développés ces dernières années. En effet, de nombreuses méthodes pouvant s'appuyer sur l'utilisation de tests rapides ou encore d'automates ont été mises au point ces dernières années, dans le but d'identifier le pathogène impliqué dans le lait de mammite étudié, mais aussi de déterminer la sensibilité de ce pathogène à certains antibiotiques d'intérêt en médecine vétérinaire. Ces examens ont pour but une meilleure utilisation des antibiotiques, mais aussi un suivi accru des élevages et une possibilité pour les vétérinaires d'adapter les conseils à prodiguer aux éleveurs non seulement à l'échelle individuelle mais aussi à l'échelle du troupeau. L'étude des résultats de la clinique de Saint Symphorien sur Coise nous montre l'intérêt de ces analyses pour étudier la répartition des pathogènes mammaires ainsi que le suivi des résistances.

Mots-clés

---

MAMMITE, BOVIN, DIAGNOSTIC, ANTIBIOGRAMME, RESISTANCE

Jury

---

Président du jury : Pr CADORE Jean-Luc

Directeur de thèse : Pr PROUILLAC Caroline

2ème assesseur : Dr BRUTO Maxime