

# ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2006 - Thèse n° .....

***SUIVIS DE COMPTAGES CELLULAIRES ET D'EXAMENS  
BACTERIOLOGIQUES LORS DE MAMMITES CLINIQUES  
CHEZ LA VACHE LAITIERE.  
ETUDE EXPERIMENTALE AU CENTRE D'ELEVAGE LUCIEN  
BIZET DE POISY***

## THESE

Présentée à l'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 7 novembre 2006  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*NOIRETERRE Philippe*  
Né le 23 juin 1982  
à VICHY





# ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2006 - Thèse n° .....

***SUIVIS DE COMPTAGES CELLULAIRES ET D'EXAMENS  
BACTERIOLOGIQUES LORS DE MAMMITES CLINIQUES  
CHEZ LA VACHE LAITIERE.  
ETUDE EXPERIMENTALE AU CENTRE D'ELEVAGE LUCIEN  
BIZET DE POISY***

## THESE

Présentée à l'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 7 novembre 2006  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*NOIRETERRE Philippe*  
Né le 23 juin 1982  
à VICHY





Directeur : Stéphane MARTINOT

	PREX	PR 1	PR 2	MC	Contractuel, Associé, IPAC et ISPV	AERC	Chargés de consultations et d'enseignement
<b>DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE</b>							
Microbiologie, Immunologie, Pathologie Générale	Y. RICHARD		A. KODJO	V. GUERIN-FAUBLEE D. GREZEL			
Pathologie infectieuse			A. LACHERETZ M. ARTOIS	J. VIALARD			
Parasitologie et Maladies Parasitaires	MC. CHAUVÉ	G. BOURDOISEAU		MP. CALLAIT CARDINAL L. ZENNER			
Qualité et Sécurité des Aliments		G. CHANTEGRELET	P. DEMONT C. VERNOZY	A. GONTHIER S. COLARDELLE			
Législation et Jurisprudence			A. LACHERETZ				
Bio-Mathématiques				P. SABATIER ML. DELIGNETTE K. CHALVET-MONFRAY			
<b>DEPARTEMENT ANIMAUX DE COMPAGNIE</b>							
Anatomie		E. CHATELAIN	T. ROGER	S. SAWAYA			K. BENEREDOUJANE
Chirurgie et Anesthésiologie		JP. GENEVOIS	D. FAU E.VIGUIER D. REMY		G. CHANOIT (MCC) S. JUNOT (MCC) K. PORTIER (MCC) C. DECOSNE-JUNOT (MCC)	C. CAROZZO	N. GAY C. POUZOT
Anatomie-pathologique/Dermatologie-Cancérologie		JP. MAGNOL	C. FLEURY	T. MARCHAL	C. BOULOCHER (MCC)		
Hématologie		C. FOURNEL			D. WATRELOT-VIRIEUX (MCC) P. BELLI (MCA) D. PIN (MCA)		L. POUDEIROUX
Médecine interne		JL. CADORE		L. CHABANNE F. PONCE	M. HUGONNARD (MCC)		I. BUBLOT C. ESCRIOU E. SEGARD
Imagerie Médicale					J. SONET (MCC)		
<b>DEPARTEMENT PRODUCTIONS ANIMALES</b>							
Zootéchnie, Ethologie et Economie Rurale		M. FRANCK		L. MOUNIER			
Nutrition et Alimentation				D. GRANCHER L. ALVES DE OLIVEIRA G. EGRON			
Biologie et Pathologie de Reproduction		F. BADINAND	M. RACHAIL-BRETIN	S. BUFF P. GUERIN	A. C. LEFRANC		
Pathologie Animaux de Production		P. BEZILLE	T. ALOGNINOIWA	R. FRIKHA M.A. ARCANGIOLI D. LE GRAND			G. LESOBRE P. DEBARNOT D. LAURENT
<b>DEPARTEMENT SCIENCES BIOLOGIQUES</b>							
Physiologie/Thérapeutique				J.J. THIEBAULT J.M. BONNET-GARIN			
Biophysique/Biochimie		E. BENOIT F. GARNIER					
Génétique et Biologie moléculaire		G. KECK	F. GRAIN	V. LAMBERT			
Pharmacie/Toxicologie Législation du Médicament			P. JAUSSAUD P. BERNY	T. BURONFOSSE			
Langues					C. FARMER R. SULLIVAN		
<b>DEPARTEMENT HIPPIQUE</b>							
Pathologie équine		JL. CADORE		A. LEBLOND			
Clinique équine		O. LEPAGE		A. BENAMOU-SMITH	M. GLANGL		E. MOREAU
Expertise nécropsique			C. FLEURY				



# Remerciements

A Monsieur le Professeur Michel Berland  
De la faculté de Médecine Lyon-Sud  
Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse,  
Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Pierre Guérin  
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon  
Qui nous a fait l'honneur d'encadrer notre travail,  
Pour sa disponibilité et sa patience  
Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance.

A Madame le Professeur Véronique Guérin-Faublée  
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon  
Qui a accepté de prendre part à notre jury de thèse,  
Pour son aide précieuse  
Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Thierry Hétreau,  
Du Centre d'Elevage de Poisy  
Qui nous a proposé ce travail,  
Pour son accueil  
Sincères remerciements

A mes parents  
Pour m'avoir permis de devenir ce que je suis  
Pour m'avoir supporté pendant toutes ses années  
Pour supporter encore mes passions piquantes  
Que l'avenir vous soit doux car le passé vous a oublié  
Merci.

A la Marie  
Parce que l'on dit parfois plus de choses avec les yeux qu'avec les mots  
Merci.

A Olivier  
Le plus doué des « bons à rien »  
Que la vie te révèle tel que tu es :  
Exceptionnel.

A toute ma famille  
Merci.

Aux anciens de Neuvy

Si loin déjà.

Aux amis de prépa et de Lyon

Pour les soirées coinche grog et rock and roll',

Les poires bues à la russe,

Pour les tartines au miel flambées,

Les tubes de dentifrices avalés à quatre heures du mat'...

Aux piqué(e)s du Club Apis

Pour les essais récupérés en short et les apremis dégustation.

Aux anciens de la T1 pro repro d'Alfort

Parce qu'une année comme ça « c'est génial !® »

Aux extrémistes du Haut-Doubs

A tous celles et ceux qui ne connaissent pas Philippe mais Slippy

Merci et qu'à l'avenir les liens ne se rompent pas.

Au Docteur Denis

Pour mon dépucelage professionnel.

Aux Docteurs Jondot et Picard

Pour m'avoir fait confiance

Et me permettre d'avancer dans notre si bel art

Merci.



Au petit nuage  
Qui berce ma vie depuis quatre ans  
L'avenir avec toi ne me fait plus peur  
Je t'aime



# Table des matières

Table des matières .....	11
Tables des illustrations .....	15
Liste des figures.....	15
Liste des tableaux .....	17
Liste des abréviations et sigles utilisés.....	18
Introduction .....	19
1    Rappels : les mammites de la vache laitière.....	21
1.1.    Définition .....	23
1.2.    Etiologie.....	23
1.3.    Pathogénie.....	26
1.3.1.    Pénétration des germes dans la mamelle.....	26
1.3.2.    Infection de la glande .....	27
1.3.3.    Inflammation de la mamelle et cellules du lait .....	28
1.3.4.    Evolution .....	29
1.4.    Clinique.....	30
1.4.1.    Mammite clinique .....	30
1.4.1.1.    Mammite suraiguë.....	30
1.4.1.2.    Mammite aiguë.....	31
1.4.1.3.    Mammite chronique.....	31
1.4.2.    Mammite sub-clinique.....	31
1.5.    Epidémiologie .....	32
1.5.1.    Epidémiologie descriptive.....	32
1.5.1.1.    Indicateurs .....	32
1.5.1.2.    Facteurs de variations .....	33
1.5.1.2.1.    Facteurs liés à l’animal.....	33
1.5.1.2.2.    Facteurs liés à l’espèce bactérienne.....	34
1.5.1.2.3.    Facteurs liés au logement .....	35
1.5.1.2.4.    Facteurs liés à la traite .....	35
1.5.2.    Epidémiologie synthétique.....	37
1.5.2.1.    Le modèle mammites de traite .....	37
1.5.2.2.    Le modèle mammites d’environnement.....	39

1.5.2.3.	Les modèles d'association et d'exposition.....	40
1.6.	Diagnostic .....	41
1.6.1.	Diagnostic individuel .....	41
1.6.1.1.	Diagnostic clinique.....	41
1.6.1.2.	Diagnostic expérimental.....	41
1.6.1.2.1.	Technique directe de numération cellulaire .....	41
1.6.1.2.2.	Technique indirecte de numération cellulaire .....	42
1.6.1.2.2.1.	Le « Californian mastitis test » (CMT) ou test au Teepol®.....	42
1.6.1.2.2.2.	Mesure de la conductivité électrique du lait.....	42
1.6.1.3.	Le diagnostic étiologique .....	43
1.6.2.	Diagnostic collectif .....	43
2.	Etude expérimentale.....	45
2.1.	Objectifs de l'étude .....	47
2.2.	Matériels et méthodes .....	47
2.2.1.	Présentation de l'élevage.....	47
2.2.1.1.	Le troupeau.....	47
2.2.1.2.	Conduite du troupeau .....	48
2.2.1.3.	La traite.....	48
2.2.1.4.	Prévalence des mammites subcliniques.....	49
2.2.2.	Les intervenants.....	49
2.2.3.	Méthodes .....	50
2.2.3.1.	Durée de l'étude .....	50
2.2.3.2.	Définition : le cas mammite clinique.....	50
2.2.3.3.	Prélèvement .....	50
2.2.3.3.1.	Moment du prélèvement.....	50
2.2.3.3.2.	Réalisation du prélèvement .....	51
2.2.3.3.3.	Conservation et expédition .....	52
2.2.3.4.	Analyses de laboratoire .....	52
2.2.3.4.1.	Les comptages cellulaires.....	53
2.2.3.4.2.	L'examen bactériologique.....	53
2.2.3.5.	Collecte des données .....	57
2.2.3.6.	Exploitation des données.....	57
2.3.	Résultats.....	57

2.3.1.	Répartition des résultats .....	57
2.3.1.1.	Répartition des cas de mammite clinique au cours du temps .....	58
2.3.2.	Résultats bactériologiques .....	59
2.3.2.1.	Bactériologie le jour de la mammite .....	59
2.3.2.2.	Bactériologie de contrôle à J15 .....	62
2.3.2.3.	Estimation de la guérison bactériologique des quartiers .....	63
2.3.2.3.1.	Estimation de la guérison tous germes confondus. ....	65
2.3.2.3.2.	Estimation de la guérison pour les germes les plus souvent isolés	65
2.3.2.3.2.1.	<i>Escherichia coli</i> .....	65
2.3.2.3.2.2.	<i>Streptococcus uberis</i> .....	65
2.3.2.3.2.3.	Staphylocoques à coagulase négative .....	66
2.3.2.3.2.4.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	66
2.3.3.	Résultats des comptages cellulaires du lait de quartier .....	67
2.3.3.1.	Répartition des résultats .....	67
2.3.3.2.	Essai d'un test basé sur le comptage cellulaire du quartier infecté	
	pour évaluer sa guérison à J15 .....	68
2.3.3.2.1.	Qualités intrinsèques et extrinsèques du test .....	69
2.3.3.2.2.	Analyse ROC du test .....	70
2.4.	Discussion .....	74
2.4.1.	Résultats bactériologiques .....	74
2.4.1.1.	Prélèvements stériles et douteux .....	74
2.4.1.2.	Prélèvements contaminés .....	76
2.4.1.3.	Résultats de bactériologie à Poisy, évolution dans le temps .....	76
2.4.1.4.	Comparaison avec d'autres études françaises et étrangères .....	79
2.4.2.	Données manquantes .....	81
2.4.3.	Valeur d'un test basé sur un seuil de comptage cellulaire .....	81
2.4.3.1.	Détermination de la guérison bactériologique .....	81
2.4.3.2.	Facteurs de variations des comptages cellulaires de quartier (CCQ) .....	82
2.4.3.2.1.	Stade de lactation .....	82
2.4.3.2.1.1.	Parité .....	83
2.4.3.2.2.	Infection .....	83
2.4.3.3.	Comparaison des qualités de notre test avec d'autres études .....	84

2.4.3.3.1. Valeurs seuils utilisées .....	84
2.4.3.3.2. Comportement du test en fonction du germe en cause.....	86
Conclusion.....	89
Bibliographie .....	91

# Tables des illustrations

## Liste des figures

Figure 1: Coupe longitudinale de l'extrémité du trayon chez la vache (d'après BARONE 1978).....	27
Figure 2: Interaction entre les défenses et les bactéries dans la mamelle de la vache laitière (d'après KREMER <i>et al</i> 1990).....	29
Figure 3: Schéma de l'incidence des nouvelles infections mammaires selon le stade de lactation (d'après BRADLEY 2004).....	33
Figure 4: Schéma du phénomène d'impact (National Mastitis council, 1985).....	36
Figure 5: Cycle épidémiologique des mammites de traite (d'après BERTHELOT <i>et al</i> 1987).....	38
Figure 6: Cycle épidémiologique des mammites d'environnement (d'après BERTHELOT <i>et al</i> 1987).....	39
Figure 7: Evolution des mammites dans un élevage (d'après BERTHELOT <i>et al</i> 1987).....	40
Figure 8: Evolution du TCT pendant la durée de l'étude (résultats fournis par la laiterie). ....	49
Figure 9: Technique de prélèvement du lait pour examen bactériologique (d'après FAROULT 2006).....	52
Figure 10: Représentation schématique de la méthode d'isolement et d'identification employée. ....	56
Figure 11: Répartition des cas de mammites cliniques au cours des trois années de l'étude ..	58
Figure 12: Résultats de la bactériologie le jour de la mammite. ....	60
Figure 13: Fréquence des différents germes isolés de mammites cliniques à j0, seul ou en association. ....	61
Figure 14: Fréquence des germes isolés à la bactériologie de contrôle à J15, seuls ou en association. ....	63
Figure 15: Résultat de la première bactériologie des 55 cas analysés. ....	64
Figure 16: Germes isolés le jour de la mammite pour les 112 cas servant aux comptages cellulaires .....	67
Figure 17: Courbe ROC analysant le comportement du test pour différentes valeurs seuils allant de 25 000 à 1 000 000 de cell/mL. ....	71

Figure 18: Courbe ROC du test appliqué au trois groupes de germes principalement rencontrés. ....	72
Figure 19: Comparaison des courbes ROC du test appliqué à <i>S. aureus</i> et à tous les germes rencontrés dans l'étude.....	73
Figure 20: Répartition des isolements bactériens lors de trois études à Poisy.....	77
Figure 21: Répartition des isolements bactériens lors de différentes études françaises (à gauche) et étrangères (à droite) comparées à notre étude (au centre). ....	80
Figure 22: Courbe ROC du test de détection des infections mammaires, dues à des pathogènes majeurs (en pointillés) ou à tous les pathogènes (trait continu) (d'après DJABRI <i>et al</i> 2002).....	87
Figure 23: Courbe ROC du CCQ 4 semaines après traitement de mammites clinique dues à <i>Staphylococcus aureus</i> et à des SCN (carré noirs, les carrés blancs tracent la courbe ROC de l'activité de la N-acétylglucosaminidase) (d'après PYÖRÄLÄ 1997). ....	87

## Liste des tableaux

Tableau 1: Germes responsables de mammites et leur réservoir primaire (modifié d'après QUINN <i>et al</i> 1994).....	25
Tableau 2: Répartition des différentes populations cellulaires du lait en l'absence d'infection (SERIEYS 1985).....	28
Tableau 3: estimation du niveau d'infection à partir du TCT .....	32
Tableau 4: Règle d'interprétation des résultats du CMT (BERTHELOT <i>et al</i> 1987) .....	42
Tableau 5: Estimation du niveau d'infection du troupeau grâce au TCT. ....	43
Tableau 6 : Evaluation de la qualité du prélèvement (d'après COFRAC/CNEVA).....	54
Tableau 7: Répartition des différents germes isolés seuls, ou en association lors de mammite clinique.....	61
Tableau 8: Espèces de SCN isolées.....	62
Tableau 9: Germes isolés à la bactériologie de contrôle, seuls ou en association. ....	63
Tableau 10: Taux de guérison bactériologique 15 jours après la mammite pour chaque catégorie de germe rencontrée.....	66
Tableau 11: Moyennes des comptages cellulaires de quartier des différents groupes en fonction de la bactérie et de la guérison ou non du quartier à J15.....	68
Tableau 12: Qualités intrinsèques et extrinsèques du test suivant trois valeurs seuils (N=112). .....	69
Tableau 13: Qualités intrinsèques et extrinsèques du test pour différentes espèces bactériennes.....	69
Tableau 14: Répartition des isollements bactériens lors de trois études à Poisy. ....	77
Tableau 15: Comparaison des isollements bactériens avec des études françaises et étrangères. .....	79
Tableau 16: Sensibilité et spécificité pour trois valeurs seuils possibles (d'après SCHEPERS et al 1997).....	85
Tableau 17: Qualités d'un test basé sur le CCQ suivant le germe responsable de la mammite (d'après PYÖRÄLÄ et PYÖRÄLÄ 1997).....	86

# Liste des abréviations et sigles utilisés

CCI = comptage cellulaire individuel

CCQ = comptage cellulaire de quartier

CMT = Californian Mastitis Test

*E.* = *Escherichia*

GDS = Groupement de défense sanitaire

*K.* = *Klebsiella*

LIDAL = Laboratoire Inter Départemental d'Analyse du Lait

ROC = Receiver Operating Characteristics

*S.* = *Staphylococcus*

SCN = Staphylocoques à Coagulase Négative

Se. = Sensibilité

Sp. = Spécificité

*Str.* = *Streptococcus*

TCT = taux cellulaire de tank

TNI = taux de nouvelles infections

VPN = Valeur Prédictive Négative

VPP = Valeur Prédictive Positive

# Introduction

Les mammites sont, depuis l'apparition de la traite mécanique, sources des pertes économiques les plus importantes en élevage bovin laitier. Les pertes correspondent au coût du traitement, aux réformes de vaches incurables et aux pertes de production laitière. C'est pourquoi les mammites sont étudiées depuis longtemps. Dans la seconde moitié du siècle dernier, l'avènement de méthodes de bactériologie fiables, ainsi que d'appareils de comptage cellulaire, a permis la compréhension de l'étiologie et de l'épidémiologie des mammites.

La bactériologie permet un diagnostic étiologique précis du micro-organisme en cause. Elle est considérée comme la méthode de référence, mais son coût et la technicité requise limitent son utilisation sur le terrain.

Le comptage cellulaire, diagnostic de l'inflammation de la mamelle, est quant à lui peu coûteux et automatisable. Il est utilisé depuis longtemps en routine comme critère de paiement du prix du lait. Réalisé alors sur le lait de mélange des quatre quartiers, il permet d'identifier les vaches infectées durablement.

Depuis peu, des appareils de comptage cellulaire utilisables à la ferme sont disponibles. Les éleveurs peuvent évaluer rapidement l'état d'inflammation et d'infection du quartier lui-même, voire même apprécier la guérison du quartier après une mammite. Il existe encore peu de données concernant l'évolution du comptage cellulaire du quartier lors de mammite : peut-on évaluer la guérison du quartier grâce au comptage cellulaire de quartier ? C'est pourquoi il nous a semblé intéressant d'étudier ce paramètre sur le terrain grâce au troupeau du centre d'élevage Lucien Bizet à Poisy.

Après quelques rappels concernant les mammites, nous étudierons les résultats d'analyses bactériologiques et de suivis de comptages cellulaires de quartier obtenus lors de mammites cliniques au centre d'élevage. Nous évaluerons ensuite la capacité du comptage cellulaire de quartier à évaluer la guérison bactériologique du quartier. Les résultats seront discutés dans une dernière partie.



# **1 Rappels : les mammites de la vache laitière**



## 1.1. Définition

Une mammite est l'inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle. C'est la réaction de défense contre une agression locale de la mamelle, la plupart du temps d'origine infectieuse.

## 1.2. Etiologie

La grande majorité des mammites sont d'origine infectieuse. Cependant on note l'existence de mammites d'origine traumatique, physique ou chimique.

L'infection de la mamelle par voie exogène est de loin la plus fréquente, bien que des infections par voie endogène soient décrites, notamment par des mycoplasmes. Il faut noter aussi l'excrétion possible de micro-organismes dans le lait sans qu'il n'y ait de signes cliniques de mammite associés, par exemple lors de tuberculose, para-tuberculose, salmonellose, listériose et brucellose.

La plupart des infections sont d'origine bactérienne. Les mammites mycosiques sont rares.

Généralement une seule espèce bactérienne est en cause, plus rarement l'association de deux espèces est possible. On considère d'ailleurs que la présence de plus de deux germes dans un lait de mammite signe une contamination du prélèvement.

Traditionnellement on classe les espèces bactériennes responsables de mammites en deux groupes (cf. tableau 1) :

- Les espèces pathogènes majeures sont potentiellement responsables de mammites cliniques et regroupent les streptocoques (*Streptococcus uberis*, *Str. dysgalactiae subsp. dysgalactiae*<sup>1</sup>, *Str. agalactiae*), les entérocoques (*Enterococcus faecalis*...), les staphylocoques à coagulase positive (CPS) (*Staphylococcus aureus subsp. aureus*<sup>2</sup>), ainsi que les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*<sup>3</sup>, *Enterobacter aerogenes*...). Ces trois familles de germes sont responsables de la majorité des mammites cliniques, à hauteur de 80-90 p. cent (ARGENTE *et al* 2005, FABRE *et al* 1997).

---

<sup>1</sup> Dans la suite du texte nous désignerons *Str. dysgalactiae subsp. dysgalactiae* par *Str. dysgalactiae*, l'autre sous espèce n'étant pas agent de mammites.

<sup>2</sup> De même *S. aureus subsp. aureus* sera désigné par *S. aureus*.

Sont plus rarement isolés *Arcanobacterium pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, des mycoplasmes et des bactéries anaérobies.

- Les espèces pathogènes mineures sont exceptionnellement responsables de mammites cliniques, mais plutôt de mammites sub-cliniques. Ce sont essentiellement les staphylocoques à coagulase négative (CNS) (*S. xylosus*, *S. chromogenes*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*...).

---

<sup>3</sup> *Klebsiella pneumoniae subsp pneumoniae* sera désignée par *K. pneumoniae*.

Tableau 1: Germes responsables de mammites et leur réservoir primaire (modifié d'après QUINN *et al* 1994)

	genre	espèces	Réservoirs
Germes pathogènes majeurs	<i>Streptococcus</i>	<i>agalactiae</i> <i>dysgalactiae</i> <i>bovis</i> <i>uberis</i>	mamelle cavité buccale, génitale Tube digestif, vagin peau
	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i> <i>faecium</i>	Fèces, peau
	Staphylocoques à coagulase +	<i>S. aureus</i> <i>S. intermedius</i> <i>S. hyicus</i>	Peau, trayon, muqueuses, homme
	Entérobactéries	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Fèces litière
	Anaérobies	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	Bovins, peau, muqueuses
	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sol, fèces, eau
	<i>Mycoplasma</i>	<i>M. bovis</i> <i>M. bovis genitalium</i>	Bovins
	Autres	<i>Mycobacterium bovis</i> <i>Nocardia asteroides</i> <i>Bacillus cereus</i>	Bovins Environnement
Germes pathogènes mineurs	Staphylocoques à coagulase -	<i>S. capitis</i> <i>S. chromogenes</i> <i>S. cohnii</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. haemolyticus</i> <i>S. hominis</i> <i>S. saprophyticus</i> <i>S. sciuri</i> <i>S. warneri</i> <i>S. xylosus</i>	Bovins ou homme
	Corynébactéries	<i>Corynebacterium bovis</i>	Bovins

Mais cette dichotomie entre pathogènes majeurs et pathogènes mineurs tend actuellement à être remise en cause devant la part croissante des isolements de staphylocoques à coagulase négative dans les laits de mammites cliniques (MYLLYS *et al* 1994).

## 1.3. Pathogénie

### 1.3.1. Pénétration des germes dans la mamelle

Hormis le cas des mammites d'origine hématogène (mammites brucellique ou tuberculeuse), les germes pathogènes pénètrent dans la glande par le canal du trayon.

Le canal du trayon constitue la première barrière contre la pénétration des germes (cf. figure 1). Le sphincter à sa base maintient le canal fermé entre les traites. Ensuite la muqueuse du canal est tapissée de cellules kératinisées possédant des propriétés bactériostatiques. Ces cellules desquament régulièrement, ce qui contribue à l'élimination des germes dans le lait en début de traite.

Ainsi pour que les germes pénètrent, il faut d'abord que le sphincter soit ouvert. L'ouverture du sphincter étant maximale à la fin de la traite, c'est lors de la traite et dans la demi-heure suivant la traite qu'a lieu la majorité des infections. De même le canal du trayon voit son diamètre augmenter au vêlage et au tarissement, d'où une sensibilité accrue des vaches aux infections pendant ces périodes.

Le franchissement du canal peut avoir lieu selon trois grandes modalités :

- Soit par le phénomène d'impact lors de la traite mécanique : une entrée d'air intempestive au niveau d'un manchon trayeur provoque une baisse du niveau de vide dans la griffe, et le reflux de lait de la griffe vers les autres manchons trayeurs où le niveau de vide est plus élevé. Ce lait va alors déposer des germes au niveau des trayons sains.
- Soit par la multiplication de germes présents sur le trayon entre les traites : ces germes profitent de la fermeture différée du sphincter pour pénétrer dans le canal. Toute lésion du trayon (verruë, blessure, gerçure) favorise la multiplication des germes et par conséquent la fréquence des infections.
- Soit par l'introduction directe dans le sinus lactifère de germes lors de traitements intra mammaires mal conduits ou de tout sondage du canal du trayon.

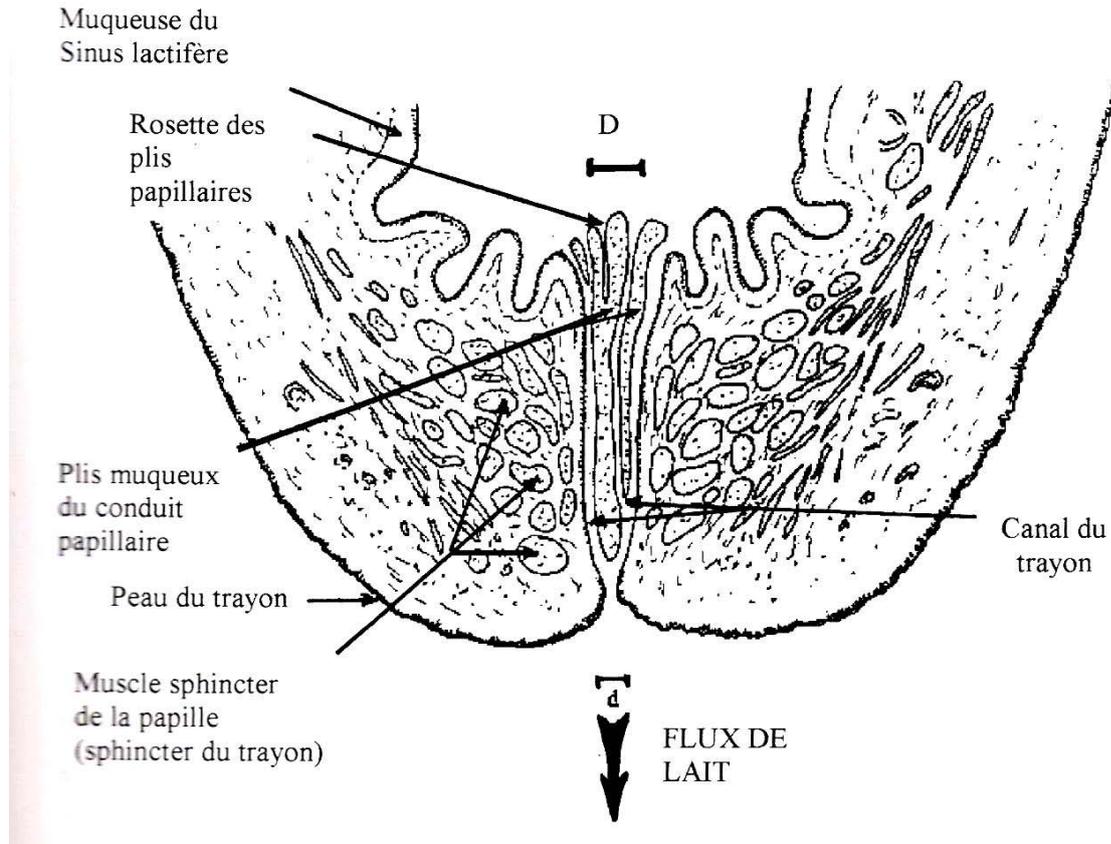


Figure 1: Coupe longitudinale de l'extrémité du trayon chez la vache (d'après BARONE 1978)

### 1.3.2. Infection de la glande

Normalement la traite par son effet de vidange concourt à l'élimination des germes qui ont pu pénétrer dans le sinus lactifère. Les germes qui provoquent l'infection ont donc des propriétés d'adhésion à l'épithélium du sinus lactifère. On a réussi à montrer in vivo que *S. aureus* et *Str. agalactiae* adhèrent aux cellules épithéliales de la glande mammaire.

Ensuite les germes se multiplient rapidement et envahissent le tissu mammaire. La prolifération des germes s'accompagne de la production d'enzymes et de toxines qui vont léser le tissu sécrétoire et provoquer une modification qualitative du lait produit. Les bactéries se multiplient d'autant plus facilement que la réaction de défense cellulaire de la glande est longue à se mettre en place. En effet la glande mammaire saine renferme normalement peu de cellules. Les cellules les plus nombreuses alors sont les macrophages, mais leur aptitude à phagocyter les germes pathogènes est diminuée par rapport aux monocytes sanguins, à cause de la phagocytose des débris cellulaires et des globules de gras du lait.

### 1.3.3. Inflammation de la mamelle et cellules du lait

La mamelle saine contient peu de cellules, ce sont principalement des macrophages (66-88%) ainsi que des lymphocytes, des cellules épithéliales desquamées, et quelques polynucléaires :

**Tableau 2: Répartition des différentes populations cellulaires du lait en l'absence d'infection (SERIEYS 1985)**

Type cellulaire	pourcentage
Macrophages	66-88
Polynucléaires neutrophiles	0-11
Lymphocytes	10-27
Cellules épithéliales	0-7

Lors d'infection, les lésions du tissu sécrétoire provoquent l'afflux massif de polynucléaires neutrophiles sanguins dans la glande par diapédèse (cf. figure 2). Ces derniers deviennent alors le type de cellule majoritaire dans le lait. Ils représentent de 50% des cellules lors d'une infection modérée, à 90% lors de mammite aiguë. La numération de l'ensemble des cellules somatiques du lait constitue une bonne estimation du nombre de polynucléaires neutrophiles et donc de l'état inflammatoire de la glande mammaire.

Les polynucléaires, de par leur capacité de phagocytose, constituent la principale défense de la mamelle contre les infections. Cependant comme pour les macrophages leur capacité à phagocyter les germes est réduite par rapport aux polynucléaires sanguins.

L'afflux massif de polynucléaires modifie profondément la qualité de la sécrétion : le lait contient des caillots de fibrine et des grumeaux.

Il existe aussi d'autres systèmes de défense de la glande comme les lactoferrines, le lysozyme, le système lacto-peroxydase-thiocyanate-peroxydase présent dans le lait.

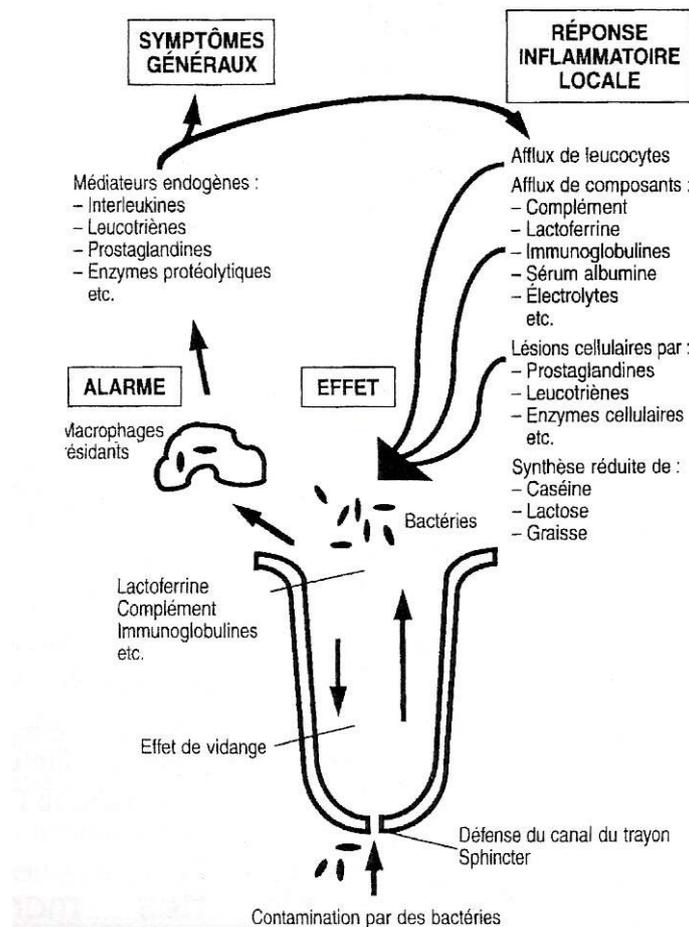


Figure 2: Interaction entre les défenses et les bactéries dans la mamelle de la vache laitière (d'après KREMER *et al* 1990)

### 1.3.4. Evolution

Suivant le pouvoir pathogène du micro-organisme et l'efficacité des réactions de défense de la glande, l'évolution se fait :

- Vers la guérison spontanée, lorsque la réponse cellulaire est de bonne qualité.
- Vers l'extension de l'inflammation et de l'infection, lorsque le micro-organisme est très pathogène. On observe alors des manifestations cliniques de mammite.
- Vers la persistance de l'infection dans la glande, on parle de mammite sub-clinique, un équilibre s'installe entre l'infection et la réponse inflammatoire de la glande. Lorsque l'équilibre se rompt l'expression clinique reprend.

## 1.4. Clinique

### 1.4.1. Mammite clinique

La définition d'une mammite clinique est la présence de symptômes fonctionnels, c'est-à-dire une modification de la sécrétion de la glande. La quantité et l'aspect du lait changent, reflétant une perturbation des fonctions de sécrétion et filtration.

En plus de ces symptômes fonctionnels, on peut observer des symptômes locaux classiques de l'inflammation : rougeur, tuméfaction, chaleur et douleur de la mamelle ou du quartier atteint. On parle alors de mammite aiguë. Lors de mammite chronique, le quartier s'atrophie et se sclérose.

Enfin parfois on observe des symptômes généraux liés à une intoxication. Ils se traduisent par une altération de l'état général (abattement, anorexie, hyperthermie, arumination, déshydratation, troubles locomoteurs...). On parle alors de mammite suraiguë.

Nous allons maintenant évoquer les différents types de mammites cliniques rencontrés.

#### 1.4.1.1. Mammite suraiguë

D'apparition brutale et d'évolution rapide, elle se caractérise par une sécrétion lactée très modifiée (aspect séreux, aqueux, hémorragique, sanieux ou purulent) voire interrompue par la douleur. Les signes locaux sont très violents, la mamelle très congestionnée. L'état général est fortement altéré et l'évolution vers la mort est fréquente en l'absence de traitement précoce.

On distingue deux formes caractéristiques :

- La mammite paraplégique : la vache est en décubitus, en syndrome fébrile (tachycardie, tachypnée, hyperthermie...), parfois en diarrhée. Les symptômes locaux peuvent être frustrés, il convient alors de faire le diagnostic différentiel avec une fièvre vitulaire en observant la sécrétion qui est rare et séreuse. Des entérobactéries sont le plus souvent associées à ce type de mammite.
- La mammite gangreneuse : l'inflammation du quartier atteint est très violente, puis suivie d'une nécrose avec apparition d'un sillon disjoncteur séparant les tissus sains des tissus nécrosés froids, noirâtres à gris plombé. La sécrétion est rare et nauséabonde. L'évolution

rapide conduit à la mort en l'absence de traitement. Le germe mis en cause est *S. aureus*, parfois associé à des anaérobies.

#### 1.4.1.2. Mammite aiguë

Le quartier est enflammé, la sécrétion est modifiée avec des grumeaux. Les symptômes généraux sont peu marqués. L'évolution est plus lente et ne se solde pas par la mort de l'animal. En l'absence de traitement l'évolution vers la chronicité est fréquente. Tous les germes potentiellement responsables de mammite peuvent être isolés.

#### 1.4.1.3. Mammite chronique

Elle est le plus souvent secondaire à une mammite aiguë. Les symptômes locaux sont discrets, lentement le quartier évolue vers l'atrophie du fait de l'installation de zones de fibrose cicatricielle. La mamelle devient noueuse à la palpation. La sécrétion n'est souvent modifiée qu'en début de traite. L'évolution est lente vers le tarissement de la sécrétion au bout de plusieurs mois. Tous les germes donnant des mammites peuvent être isolés.

### 1.4.2. Mammite sub-clinique

Elle est par définition asymptomatique : la sécrétion paraît macroscopiquement normale même en début de traite, les signes locaux et généraux sont absents. Seul l'examen du lait au laboratoire permet de mettre en évidence des modifications chimiques (baisse du taux de caséines et de lactose, augmentation du taux de chlorures), bactériologiques (présence de germes) et surtout cellulaire du lait, en l'occurrence augmentation des cellules somatiques du lait (surtout les polynucléaires neutrophiles). Les germes en causes sont essentiellement à Gram positif (staphylocoques et streptocoques).

Les mammites sub-cliniques, beaucoup plus fréquentes que les mammites cliniques, sont insidieuses et responsables de pertes économiques importantes par une baisse de la production laitière et une augmentation des comptages cellulaires du troupeau.

## 1.5. Epidémiologie

### 1.5.1. Epidémiologie descriptive

#### 1.5.1.1. Indicateurs

La littérature concernant les mammites définit trois paramètres permettant de caractériser l'évolution des infections dans un élevage : la prévalence, l'incidence et la persistance.

La prévalence est le nombre de cas par unité de temps. Concernant les mammites on parle de niveau d'infection. Le niveau d'infection est le nombre de quartiers atteints dans le troupeau à un instant donné. On l'estime grâce au taux cellulaire moyen du lait de tank (TCT) sur 6 mois (cf. tableau 3).

**Tableau 3: estimation du niveau d'infection à partir du TCT**

Taux cellulaire de tank	% de quartiers infectés (niveau d'infection)
200 000 cell. /mL	3 à 7 %
400 000 cell. /mL	8 à 12 %
800 000 cell. /mL	20 à 25 %

L'incidence est le taux de nouvelles infections (TNI) par unité de temps. On l'estime par les comptages cellulaires individuels (CCI) des primipares. En effet, la mamelle étant saine avant le part, on estime que toute augmentation des CCI au-delà de 300 000 cell/mL traduit une nouvelle infection.

La persistance est la durée moyenne des infections dans le quartier sur une année ramenée en pourcentage. Une persistance de 50% signifie une infection qui a perduré 6 mois dans le quartier.

La persistance et l'incidence varient indépendamment l'une de l'autre. Un même niveau d'infection élevé (TCT=800 000 cell. /mL) peut être dû soit à un TNI de 40% associé à une persistance de 50%, soit à un TNI de 80% et une persistance de 25%.

## 1.5.1.2. Facteurs de variations

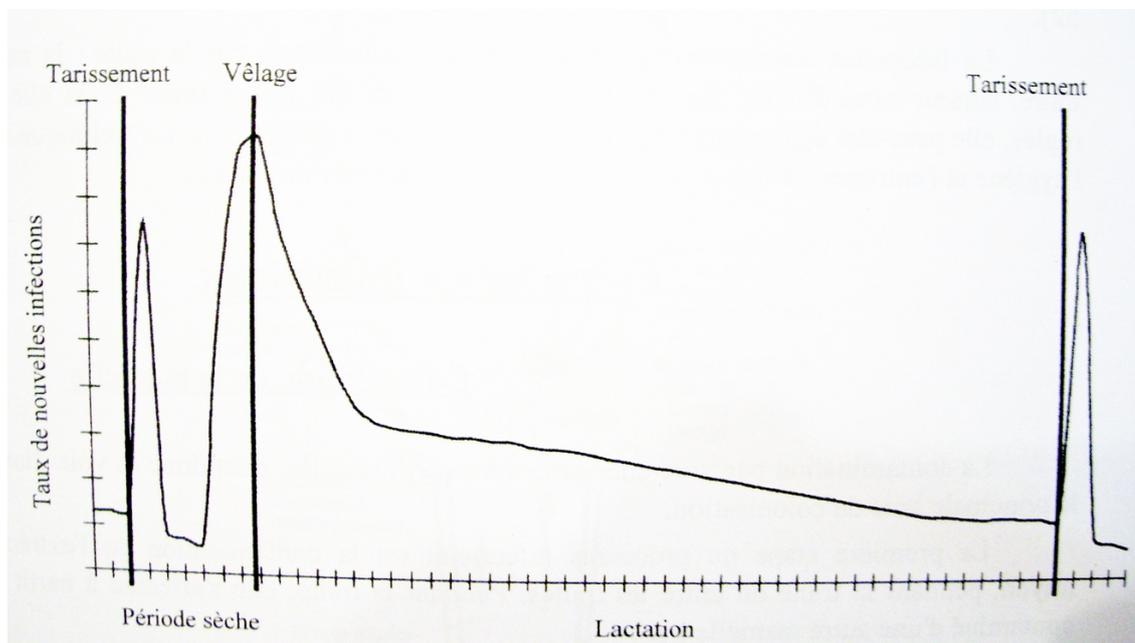
### 1.5.1.2.1. Facteurs liés à l'animal

- Le stade de lactation

La plupart des nouvelles infections ont lieu pendant les trois premiers mois de lactation (cf. figure 3). Parmi celles-ci et les infections ultérieures, 80 % persistent jusqu'au tarissement. De plus, la moitié des quartiers assainis se réinfectent pendant la même lactation, donc seulement 10 % des quartiers nouvellement infectés pendant la lactation considérée seront réellement assainis avant le tarissement. Cette persistance des infections sub-cliniques explique leur importance économique.

Ensuite pendant la période sèche on observe de nouvelles infections (15-20%) pendant les trois premières semaines du tarissement, ainsi que dans les quinze jours précédant le vêlage. Entre ces deux périodes la mamelle complètement involuée semble résistante aux infections hormis celles dues à *Arcanobacterium pyogenes* (cf. figure 3).

Enfin en l'absence de traitement au tarissement, 80% des infections persistent jusqu'au vêlage.



**Figure 3: Schéma de l'incidence des nouvelles infections mammaires selon le stade de lactation (d'après BRADLEY 2004)**

- Mamelles

Les vaches aux mamelles très développées, « décrochées », sont beaucoup plus sensibles aux infections, car plus exposées aux souillures, comme les animaux aux trayons allongés. La forme des trayons intervient aussi dans la sensibilité. Par conséquent dans les schémas de sélection, on recherche une mamelle haute, bien attachée, équilibrée, avec des trayons courts, fins et non coniques.

De même la vitesse de traite, qui dépend du diamètre du canal et de son élasticité, a une très forte corrélation avec la fréquence des infections.

- Nombre de lactation

L'incidence des mammites augmente avec l'âge, le sphincter du trayon perdant de son élasticité, et la mamelle se rapprochant des jarrets.

#### 1.5.1.2.2. Facteurs liés à l'espèce bactérienne

L'espèce bactérienne en cause joue surtout un rôle dans la persistance de l'infection de la glande. Les mammites à staphylocoques sont les plus persistantes, ces derniers formant des micro-abcès dans le parenchyme mammaire où ils sont insensibles aux antibiotiques.

La prévalence des différentes bactéries est différente selon la période de lactation : *E. coli* est surtout rencontré dans les semaines suivant le vêlage, *Arcanobacterium pyogenes* est plus courant chez les vaches tarées et les génisses, par contre *S. aureus* peut être rencontré à tout moment pendant la lactation.

Lors de mammites à *S. aureus* dans un élevage, on n'isole sur les différents laits de mammites qu'une seule et même souche qui prédomine largement, ce qui tend à prouver que l'infection s'étend des quartiers infectés vers les quartiers sains lors de la traite (GUERIN 1998). Ce caractère monoclonal ou oligo-clonal des infections à *S. aureus* dans un élevage était classiquement admis jusqu'à présent (SERIEYS et GICQUEL-BRUNEAU 2005), mais il est controversé par certains. A l'opposé lors de mammites à *E. coli*, on isole différents génotypes dans le même élevage : dans ce cas l'infection se fait plutôt à partir du milieu, le réservoir de la bactérie étant environnemental.

#### 1.5.1.2.3. Facteurs liés au logement

Le logement intervient de deux façons.

Il conditionne d'abord la fréquence des traumatismes des trayons, ces derniers favorisant les bactéries qui ont pour réservoir la peau du trayon et les plaies du trayon. Des conditions de logements défectueuses ont une incidence négative directe sur le taux cellulaire du tank et les mammites dites de traite.

Enfin la pollution microbienne du lieu de couchage et l'ambiance du bâtiment conditionnent le taux de contamination du trayon. La conséquence est une augmentation du nombre de mammites dites d'environnement.

La conception du logement doit tenir compte de ces notions. Le logement doit permettre d'éviter au maximum les lésions des trayons dont on connaît les circonstances d'apparition : relevé difficile lors de logettes mal conçues, couchage sur sol rugueux, glissades sur le béton non rainuré, bousculades en sortie de traite autour de l'abreuvoir...

Pour diminuer au maximum les contaminations des trayons par les germes d'environnement, la plus grande attention doit être portée au lieu de couchage. En particulier l'état de la litière, sa température et son humidité, une bonne litière devant être sèche et ne pas excéder 38°C, auquel cas il faut la changer. Des normes existent concernant la surface de litière par animal (7m<sup>2</sup> minimum) et le volume d'air par animal, elles ont été éditées pendant les années 80 et il convient aujourd'hui de les adapter aux vaches hautes productrices dont les besoins sont bien supérieurs.

#### 1.5.1.2.4. Facteurs liés à la traite

La technique de traite et le fonctionnement de la machine à traire sont impliqués dans les mammites par deux mécanismes : les lésions du trayons et les phénomènes de reflux de lait ou phénomènes d'impact.

Comme nous l'avons déjà vu, les lésions du trayon affaiblissent son rôle de barrière vis-à-vis des micro-organismes. Parmi les défauts de fonctionnement de la machine en cause, on peut citer un niveau de vide excessif qui entraîne l'éversion du canal du trayon et un pulsateur défectueux. Pour ce qui est de la technique de traite, toute sur-traite ou défaut d'arrachage des griffes peuvent occasionner des lésions du trayon.

Le phénomène d'impact (cf. figure 4) est dû à des entrées d'air intempestives au niveau d'un manchon trayeur, qui vont occasionner une baisse du niveau de vide dans ce manchon trayeur et un reflux du lait de ce trayon vers les autres faisceaux trayeurs où le niveau de vide est plus élevé. Ce reflux de lait peut être le vecteur de germes.

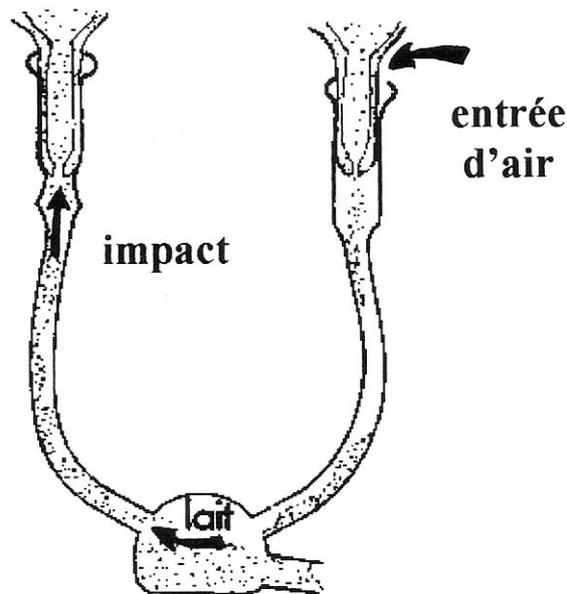


Figure 4: Schéma du phénomène d'impact (National Mastitis council, 1985)

Enfin on observe aussi des phénomènes de traite humide, les trayons baignant dans le lait qui n'est pas évacué assez vite, notamment lors de problèmes de pulsation ou de mauvaise évacuation du lait due à une pente de lactoduc trop faible (<1%).

L'ensemble des opérations de traite va conditionner la qualité du lait et la santé de la mamelle.

Dans l'idéal la traite devrait commencer par un lavage des mains du trayeur.

Ensuite la préparation de la mamelle à la traite commence par le nettoyage de la mamelle, soit à l'aide de lingettes à usage unique, soit de douchettes. Vient ensuite l'élimination des premiers jets, les premiers jets devraient être éliminés sur un bol à fond noir pour détecter précocement les mammites. Encore beaucoup d'éleveurs les éliminent malheureusement sur le sol de la salle de traite. La qualité de détection des mammites conditionne la rapidité de mise en œuvre du traitement et donc son efficacité. Toutes les

mammites non dépistées évoluent le plus souvent en mammites sub-cliniques et vont ainsi constituer des réservoirs de germes dangereux pour les autres quartiers du troupeau. De plus l'élimination des premiers jets avant la traite permet l'élimination des germes contenus dans le trayon ce qui diminue la charge microbienne du lait.

Ensuite la pose des gobelets trayeurs doit se faire en douceur, en pliant les tuyaux courts pour éviter les entrées d'air dans le circuit et le phénomène d'impact. Le décrochage automatique de la griffe diminue sérieusement le risque de sur-traite lié au décrochage manuel.

Pendant la traite il ne doit pas exister de bruits de succion ou de craquement qui signent des fuites au niveau des manchons et le risque d'apparition du phénomène d'impact.

Une fois la traite terminée, il est fortement conseillé d'appliquer sur chaque trayon un produit de trempage au pouvoir couvrant et antibactérien, qui va empêcher la pénétration des germes pendant la demi-heure suivant la traite, le temps que le sphincter du trayon se referme.

Pour la même raison il est conseillé d'alimenter les animaux après la traite de manière à ce qu'ils ne se couchent pas juste après.

Enfin il faudrait aussi établir un ordre de traite : les primipares et les vaches en début de lactation (supposées non infectées) devraient être traitées en premier, les vaches atteintes de mammites cliniques ou sub-cliniques en dernier ou avoir un poste de traite qui leur est réservé.

## 1.5.2. Epidémiologie synthétique

De l'étude des facteurs de risques des mammites décrits précédemment découlent différents modèles épidémiologiques.

### 1.5.2.1. Le modèle mammites de traite

La transmission des germes a lieu pendant la traite de quartiers infectés à quartiers sains, pendant la traite (cf. figure 5).

Les bactéries en cause sont les germes à réservoir intra-mammaire ou mammaire, à savoir principalement *S. aureus*, *Str. agalactiae* et *Str. dysgalactiae*.

Souvent le même germe et la même souche sont retrouvées dans les différents quartiers infectés d'un même troupeau, ce qui montre que la transmission a lieu le plus souvent d'un quartier infecté à un autre lors de la traite.

Les sources primaires des germes sont intra-mammaires ou situées au niveau des lésions des trayons. Comme le type clinique le plus souvent rencontré est chronique voire sub-clinique, les germes persistent longtemps dans la mamelle. De plus toute politique de réforme insuffisante et tout traitement antibiotique mal conduit augmentent d'autant plus cette persistance.

Des réservoirs relais interviennent aussi comme les manchons fissurés, la tuyauterie et les recoins de la machine à traire difficilement nettoyables.

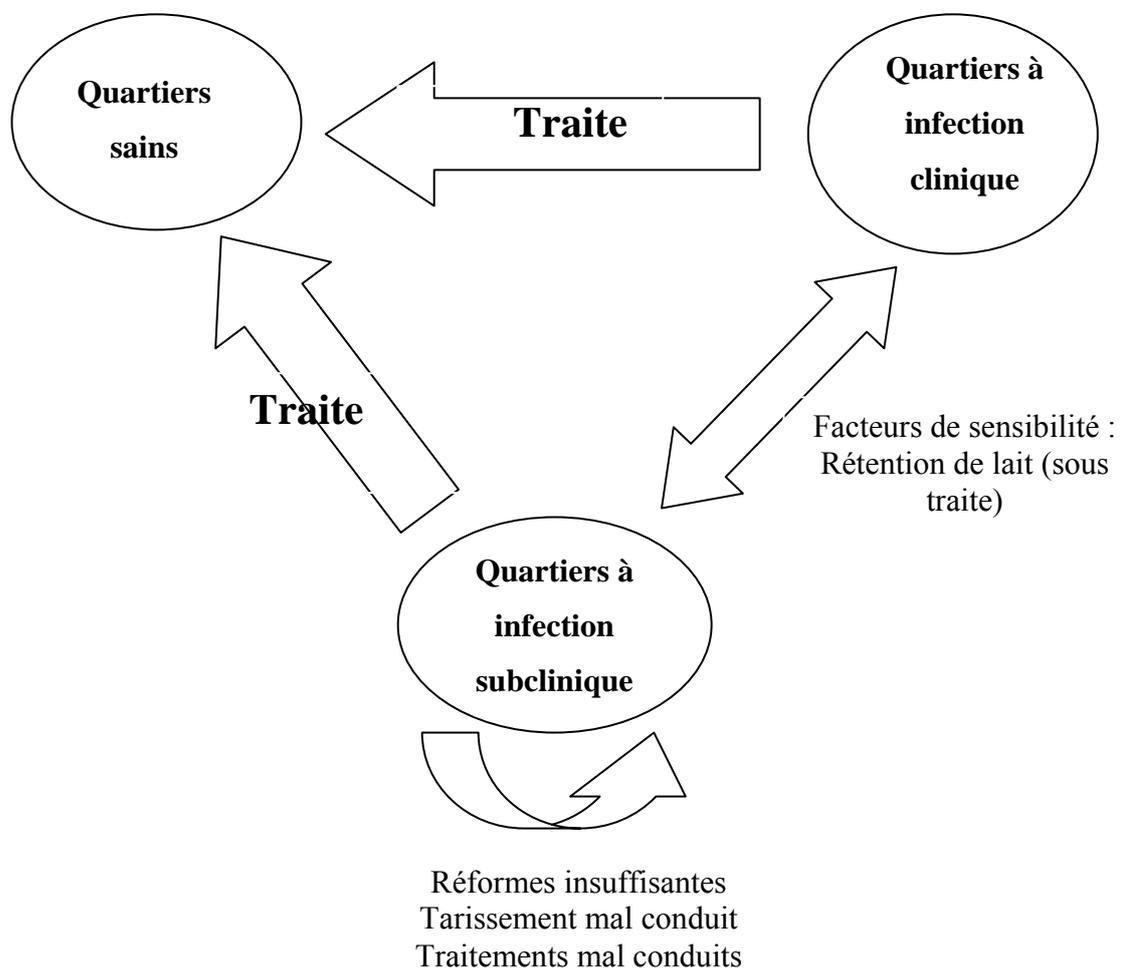


Figure 5: Cycle épidémiologique des mammites de traite (d'après BERTHELOT *et al* 1987)

### 1.5.2.2. Le modèle mammites d'environnement

La transmission des germes a lieu essentiellement en dehors des traites, par contact du trayon avec la litière souillée lors du décubitus (cf. figure 6). L'infection se fait par multiplication active des germes au niveau du trayon et remontée du canal du trayon. La période la plus favorable pour l'infection se situe juste après la traite, lorsque le sphincter du trayon est encore ouvert, surtout s'il n'y a pas de trempage ou si le produit de trempage est inactivé par de la matière organique. En dehors de cette période la contamination peut se faire si les germes pullulent dans les litières ou si le temps de couchage est plus long, lors du post-partum par exemple.

Ces mammites sont le plus souvent aiguës avec une inflammation violente du quartier, elles sont aussi plus brèves que les mammites de traite.

Les germes en cause sont les entérobactéries, *Str. uberis*, et les entérocoques. Dans un même troupeau on retrouve rarement les mêmes sérotypes d'*E. coli* plusieurs fois, par conséquent la transmission se fait rarement de quartiers infectés à quartiers sains.

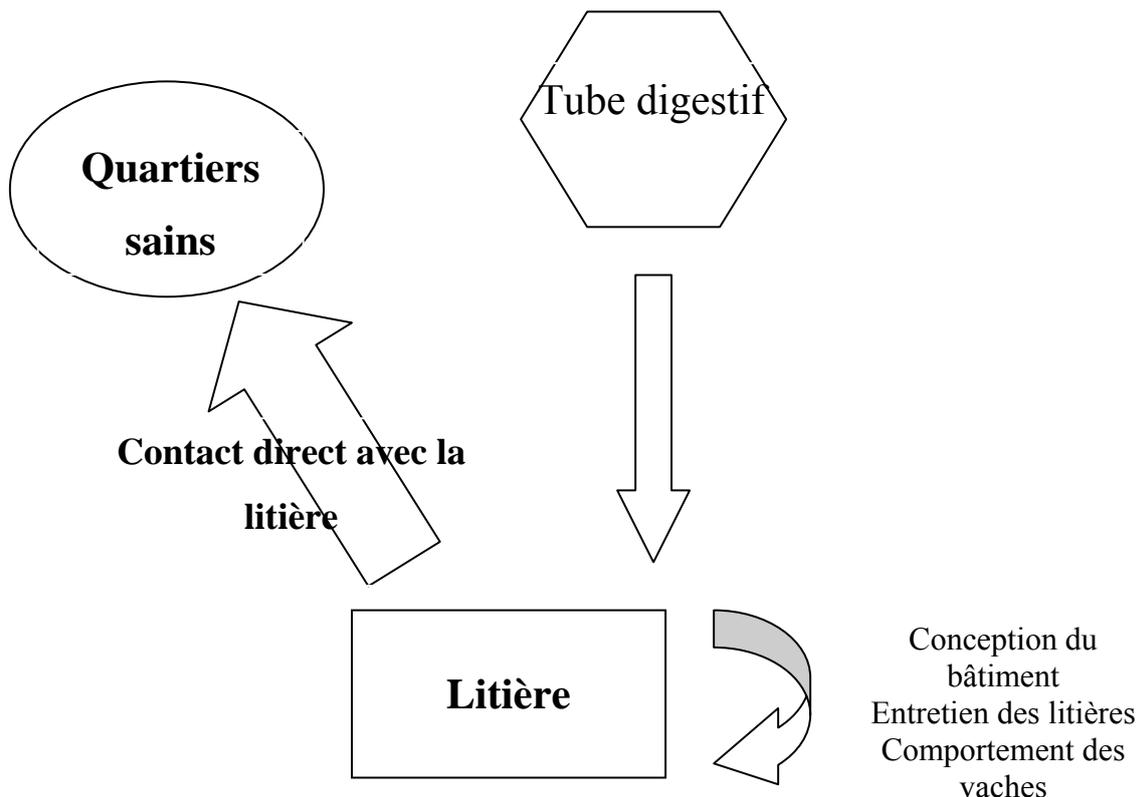


Figure 6: Cycle épidémiologique des mammites d'environnement (d'après BERTHELOT *et al* 1987)

### 1.5.2.3. Les modèles d'association et d'exposition

En élevage la dichotomie modèle mammites de traite/modèle mammites d'environnement est rarement aussi nette. L'éleveur, en essayant de contrôler les mammites, peut en modifier l'aspect épidémiologique. Les deux modèles peuvent co-exister dans le même élevage, on parle alors de modèle d'association. La domination d'un modèle par rapport à l'autre dépend des mesures prises contre l'autre modèle.

Le modèle d'exposition, rare, se rencontre lors d'apparition de mécanismes de transmission très puissants, comme un dérèglement de la machine à traire. On a alors une véritable épizootie de cas cliniques très rapidement.

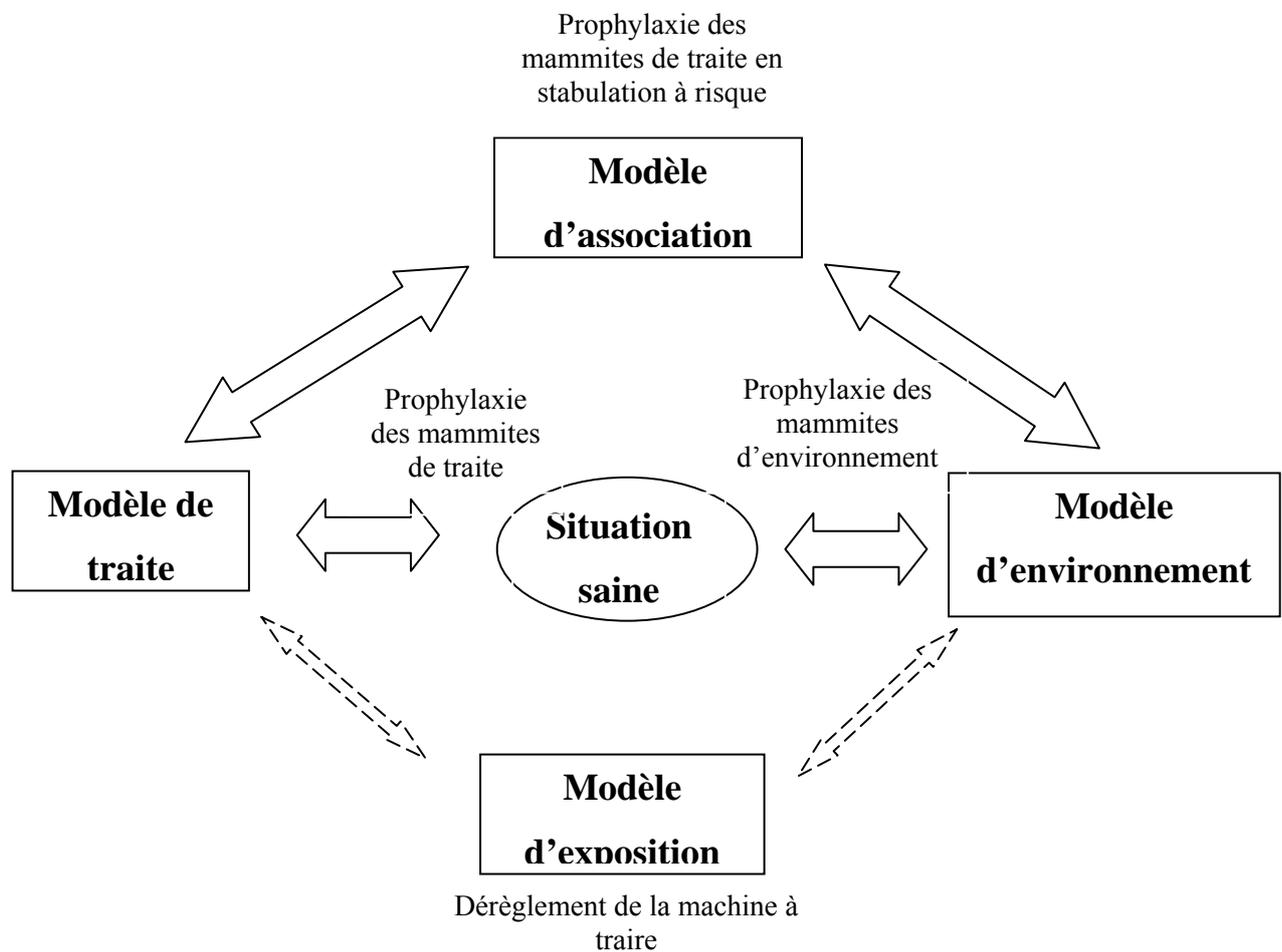


Figure 7: Evolution des mammites dans un élevage (d'après BERTHELOT *et al* 1987)

## 1.6. Diagnostic

### 1.6.1. Diagnostic individuel

#### 1.6.1.1. Diagnostic clinique

La détection précoce des mammites passe par la détection des symptômes fonctionnels, avant l'apparition de symptômes locaux. On cherche donc à mettre en évidence la présence de grumeaux dans le lait. Le moyen le plus efficace est l'épreuve du bol de traite : lors de la préparation de la mamelle à la traite, les premiers jets de lait de chaque quartier sont recueillis dans un bol à fond noir et rugueux, avant la mise en place des gobelets trayeurs.

Malheureusement de nos jours encore l'épreuve du bol de traite n'est pas réalisée systématiquement sur tous les quartiers dans de nombreux élevages.

#### 1.6.1.2. Diagnostic expérimental

Le diagnostic des mammites sub-cliniques nécessite la mise en évidence d'une augmentation du taux cellulaire du lait.

##### 1.6.1.2.1. Technique directe de numération cellulaire

Ces techniques automatisées sont appliquées mensuellement sur le lait de mélange des quatre quartiers de chaque vache, dans les élevages adhérents au contrôle laitier.

L'appareil de mesure le plus répandu dans les laboratoires est le Fossomatic® (méthode fluoro-opto-électronique) et ses dérivés. Le principe consiste à compter les noyaux des cellules du lait rendus fluorescents par coloration au bromure d'éthidium (agent intercalant de l'ADN). Le lait est disposé sur un disque. La fluorescence est émise par les cellules après excitation à une longueur d'onde spécifique du bromure d'éthidium (400-530 nm) (LERAY 1999).

Le nombre de cellules est sujet à des variations physiologiques selon le stade de lactation, la race et le rang de lactation (LE PAGE 1999). On prend donc en compte plusieurs comptages par vache pour une lactation (SERIEYS 1985) :

- si tous les comptages cellulaires individuels (CCI) sont inférieurs à 300 000 cellules par millilitre, la vache est considérée comme saine.

- si deux CCI sont supérieurs à 800 000 cellules par millilitre, la vache est considérée comme infectée durablement.
- dans tous les autres cas, elle est considérée comme douteuse.

Notons que l'on peut aussi mesurer le taux cellulaire du lait de chaque quartier individuellement, ce qui sera réalisé dans notre étude, avec pour but d'estimer la guérison du quartier, ou de détecter les quartiers probablement infectés.

#### 1.6.1.2.2. Technique indirecte de numération cellulaire

##### 1.6.1.2.2.1. Le « Californian mastitis test » (CMT) ou test au Teepol®

C'est une méthode semi-quantitative qui peut être appliquée par l'éleveur directement en salle de traite.

Pendant la préparation de la mamelle à la traite, après lavage, essuyage du trayon et élimination des premiers jets, 2 mL de lait de chaque quartier sont tirés dans une coupelle correspondant à chaque quartier, puis mélangés avec 2 mL de Teepol® (alkyl-aryl-sulfonate de Na) à 10%, un détergent qui va provoquer la lyse des cellules du lait. On agite doucement pour mélanger pendant quelques secondes avant d'observer la consistance du mélange.

En lysant les membranes cellulaires, le détergent libère l'ADN des cellules qui forme alors un gel dont la viscosité est proportionnelle au nombre de cellules dans le lait.

Tableau 4: Règle d'interprétation des résultats du CMT (BERTHELOT *et al* 1987)

aspect	résultat	Cellules par MI	Interprétation
Aucun flocculat	-	<500 000	Pas d'infection sub-clinique
Flocculat léger persistant	+	500 000 à 1 000 000	Infection sub-clinique légère
Flocculat épais adhérent	++	1 000 000 à 5 000 000	Infection sub-clinique nette
Gel épais « blanc d'œuf »	+++	>5 000 000	Infection sub-clinique à clinique

##### 1.6.1.2.2.2. Mesure de la conductivité électrique du lait

Lors de mammite, la concentration du lait en éléments filtrés, notamment en ions Cl<sup>-</sup> et Na<sup>+</sup>, augmente. Il en résulte une brusque augmentation de la conductivité électrique du lait.

Mais en comparant cette méthode de détection des mammites sur le lait des quatre quartiers avec les autres pratiques de détection des mammites, on se rend compte que celle-ci manque à la fois de sensibilité et de spécificité (BILLON *et al* 2001). Par contre la valeur prédictive positive augmente si l'on passe à l'échelle du quartier.

### 1.6.1.3. Le diagnostic étiologique

L'examen bactériologique est lourd, coûteux, il n'est utilisé que lors d'échec thérapeutique ou d'épizootie dans un élevage.

Nous détaillerons sa mise en œuvre dans la partie « analyses de laboratoire » de ce travail (voir partie 2.2.3.4.2.).

## 1.6.2. Diagnostic collectif

Le diagnostic collectif est réalisé plusieurs fois par mois par la laiterie ou le contrôle laitier sur le lait du tank, par mesure du taux cellulaire de tank (TCT) par le même genre d'appareil que pour la mesure du CCI de chaque vache.

La mesure du TCT donne le niveau d'infection du troupeau et est important pour détecter un problème de mammites sub-cliniques dans le troupeau.

**Tableau 5: Estimation du niveau d'infection du troupeau grâce au TCT.**

Taux cellulaire de tank	% de quartiers infectés (niveau d'infection)
200 000 cell./mL	3 à 7 %
400 000 cell./mL	8 à 12 %
800 000 cell./mL	20 à 25 %

Enfin le taux cellulaire de tank est très important pour l'éleveur puisqu'il est l'une des conditions de collecte et de paiement du lait. Réglementairement, au niveau national, un lait ne peut être collecté s'il présente une numération cellulaire supérieure à 400 000 cellules par mL. De plus de nombreuses laiteries appliquent un seuil encore plus sévère, souvent de 250 000 cellules par mL, au-delà duquel des pénalités sont appliquées aux producteurs.



## **2. Etude expérimentale**



## 2.1. Objectifs de l'étude

L'objectif de cette étude est double :

- Il est d'abord de faire un état des lieux des infections mammaires cliniques dans le troupeau du Centre d'élevage de Poisy, notamment du point de vue bactériologique. Cette étude vient compléter les résultats obtenus par Mrs. FLACHE et FALLET dans ce même élevage en 1997 et 1998. Leur travaux montraient alors un épisode de mammites à *S. aureus* (FALLET, 1999 – FLACHE, 2002). Le but est d'observer l'évolution des bactériologies après mise en place de mesures correctives dans l'élevage visant à réduire l'incidence des mammites à *S. aureus*.
- Ensuite l'objectif est de fournir des données supplémentaires à celles obtenues par M. FLACHE en ce qui concerne les comptages cellulaires du lait de quartier après une mammite clinique. Le but est d'établir les qualités d'un test basé sur un seuil de CCQ pour évaluer la guérison bactériologique 15 jours après traitement.

## 2.2. Matériels et méthodes

### 2.2.1. Présentation de l'élevage

Le Centre d'Elevage Lucien Bizet est situé sur la commune de Poisy en Haute-Savoie, au nord-ouest d'Annecy. Cet élevage a pour vocation de former de futurs éleveurs, des éleveurs ou tout autre intervenant en élevage laitier.

L'élevage est géré par quatre personnes dont le Docteur Thierry HETREAU, vétérinaire. Il accueille en permanence des stagiaires encadrés par les quatre intervenants.

Bien que l'élevage soit le support de formations agricoles, il est géré comme une ferme classique, dont il partage les objectifs et les caractéristiques. Ce n'est pas un centre d'expérimentation.

#### 2.2.1.1. Le troupeau

L'exploitation dispose d'un quota laitier de 487 000 kg de lait. Le troupeau est composé de 75 à 78 vaches laitières en moyenne sur l'année. Les deux races majoritaires sont

l'Abondance et la Montbéliarde (environ 35 individus chacune), le reste du troupeau se compose de quelques Prim'Holstein.

### 2.2.1.2. Conduite du troupeau

Les vêlages sont répartis sur toute l'année. L'âge moyen au vêlage est de 2,5 ans et le numéro moyen de lactation de 2,8. Le taux de réforme est de 30 %. Une à trois vaches sont réformées chaque année pour cause de mammites. Les principales causes de réforme sont la reproduction, la conformation ...

En hiver les vaches en lactation sont en stabulation libre avec pente paillée. La ration était pendant l'étude de type semi-complète à base d'ensilage de maïs. Le bâtiment est moderne mais il présente néanmoins quelques défauts (FALLET, 1999) :

- une surface par animal insuffisante (environ 4 m<sup>2</sup>),
- un rapport paille/fumier élevé.

En été les vaches en lactation sont en pâturage intégral et ne couchent plus en stabulation. Entre les périodes hivernales et estivales une période de transition est appliquée pendant laquelle les animaux couchent à l'intérieur la nuit, mais on s'efforce de la rendre la plus courte possible.

### 2.2.1.3. La traite

La salle de traite est de type 2 \* 4 tandem avec décrochage automatique. Deux postes de traite supplémentaires sont réservés aux vaches à mammites clinique.

Protocole de traite :

- nettoyage soigné des trayons à la main s'ils sont très sales
- élimination des premiers jets, le plus souvent dans un bol à fond noir, la détection des mammites cliniques est donc bonne
- pré-trempe des trayons dans un produit détergent, moussant et désinfectant
- attente de 30 secondes
- essuyage des trayons à l'aide de papier à usage unique
- pose des manchons trayeurs
- décrochage automatique
- trempage des trayons dans un produit iodé et couvrant en hiver, pulvérisation de chlorhexidine en été.

Il n'y a pas d'ordre de traite. Les vaches à mammites sont traitées au pot grâce aux deux griffes supplémentaires. Le lavage de l'installation est automatique après chaque traite. On utilise en alternance un détergent acide et alcalin chloré.

Toutes les opérations de traite sont effectuées par des stagiaires encadrés par un formateur. Les équipes de traite changent donc toutes les semaines. Pour éviter les dangers d'entrées d'air inévitables lors de la traite par des novices, la réserve de vide de l'installation est très importante.

#### 2.2.1.4. Prévalence des mammites subcliniques

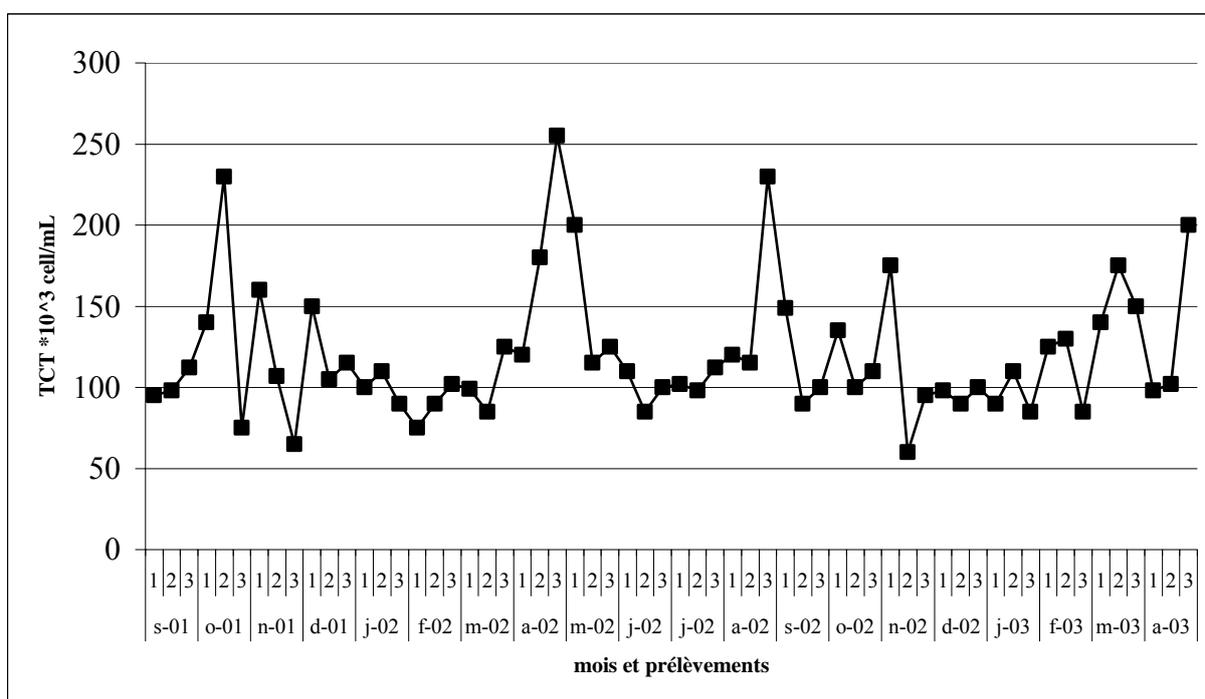


Figure 8: Evolution du TCT pendant la durée de l'étude (résultats fournis par la laiterie).

Pendant la durée de l'étude la moyenne géométrique du taux cellulaire de tank (TCT) est de 114 000 cellules par mL. La prévalence des mammites sub-cliniques est donc faible dans le troupeau.

#### 2.2.2. Les intervenants

Cette enquête a été réalisée sur l'initiative du Docteur Thierry HETREAU, vétérinaire, formateur au centre d'élevage Lucien Bizet à Poisy.

Se sont associés à ces travaux le Docteur Pierre GUERIN, maître de conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, les laboratoires INTERVET, représentés par le Docteur Philippe HOUFFSCHMITT, et le Laboratoire Inter Départemental d'Analyse du Lait (LIDAL) de Seynod.

Les prélèvements ont été réalisés par le Docteur HETREAU ou ses collaborateurs.

## 2.2.3. Méthodes

### 2.2.3.1. Durée de l'étude

L'étude a débuté en mars 2001 pour se terminer en juillet 2003. Elle couvre donc une durée de 30 mois.

### 2.2.3.2. Définition : le cas mammite clinique

Dans notre enquête l'unité utilisée est le quartier. Un cas de mammite est défini comme un quartier qui présente au minimum une modification de sa sécrétion, c'est-à-dire la présence de grumeaux dans le lait détectée lors de l'observation des premiers jets de lait sur un bol à fond noir (ou plus rarement sur le sol carrelé de la salle de traite).

Chaque cas de mammite ainsi défini est alors le point de départ de prélèvements.

### 2.2.3.3. Prélèvement

#### 2.2.3.3.1. Moment du prélèvement

Les prélèvements de lait ont été effectués :

- Lors de mammite clinique : sont alors prélevés tous les quartiers présentant des signes cliniques de mammites incluant au minimum une modification apparente du lait observée sur le bol à fond noir (grumeaux) et/ou une modification du quartier. Chaque quartier prélevé est ensuite considéré comme un cas de mammite, et sera suivi individuellement et indépendamment des autres quartiers de la même vache. Ce premier prélèvement constitue le point de départ de l'étude du quartier. Il est soumis à un examen bactériologique ainsi qu'à un comptage cellulaire. Le volume prélevé est de 20 millilitres environ.

- Chaque quartier est à nouveau prélevé pour réaliser un comptage cellulaire entre 6 et 9 jours après le premier prélèvement, puis de nouveau entre 10 et 13 jours.
- Enfin un dernier prélèvement est effectué entre 14 et 17 jours pour réaliser un dernier comptage cellulaire et un examen bactériologique de contrôle afin d'estimer la guérison bactériologique du quartier.

#### 2.2.3.3.2. Réalisation du prélèvement

La valeur de l'examen bactériologique du lait de mammites dépend en grande partie de la qualité du prélèvement, qui dépend de la technique de l'opérateur. La technique de prélèvement suit les recommandations de MIALOT (MIALOT 1983) :

- Lavage des mains.
- Lavage et séchage des trayons.
- Désinfection de l'extrémité du trayon à l'aide d'un coton imbibé d'alcool à 70°.
- Elimination du premier jet de lait.
- On saisit le flacon à prélèvement entre le pouce et les doigts de la main droite et on retourne le flacon de façon à diriger le bouchon vers le bas.
- On dévisse le bouchon de la main gauche et on le porte entre l'index et le majeur de la main droite. Tube et bouchon ont alors leurs ouvertures dirigées vers le bas afin d'éviter toute contamination.
- On saisit alors le trayon de la main gauche, on le ramène en position horizontale et on traite dans le flacon incliné un peu plus de 10 millilitres de lait.
- On referme le flacon avant de le redresser.
- On identifie aussitôt le flacon avec la date, le numéro de la vache et la quartier prélevé.

Lorsque l'on prélève plusieurs quartiers, on respecte un ordre de prélèvement inverse de l'ordre de désinfection, afin d'éviter de toucher un trayon non prélevé avant de le prélever.



**Figure 9: Technique de prélèvement du lait pour examen bactériologique (d'après FAROULT 2006).**

#### 2.2.3.3.3. Conservation et expédition

Les prélèvements sont réfrigérés et expédiés sous 48 heures au laboratoire, quelquefois ils sont congelés en vue d'une expédition groupée.

#### 2.2.3.4. Analyses de laboratoire

Les comptages cellulaires et les bactériologies sont tous réalisés au LIDAL de Seynod (74) à proximité de Poisy.

#### 2.2.3.4.1. Les comptages cellulaires

Ils sont effectués grâce à un appareil Fossomatic® 360 de FOSS ELECTRIC. (Voir partie 1.6.1.2.1 technique directe de numération cellulaire).

#### 2.2.3.4.2. L'examen bactériologique

- Ensemencement et isolement.

A l'arrivée du prélèvement au laboratoire on ensemence une gélose Columbia additionnée de 5 % de sang de mouton par un inoculum de 50 à 60 µL de lait. Ce milieu permet d'isoler la majorité des espèces bactériennes potentiellement responsables de mammites. Le milieu est ensuite placé à l'étuve à 35°C. Deux lectures sont réalisées respectivement à 24 et à 48 heures, certaines colonies ne devenant visibles qu'après 36 à 48 heures d'incubation.

En parallèle, on met en culture 1 mL de lait dans un bouillon d'enrichissement cœur cerveau. Ce bouillon servira si la lecture à 24 heures de la gélose Columbia s'avère négative. Ce bouillon est intéressant pour la détection des Entérobactéries qui sont inhibées par la lactoferrine du lait, l'isolement direct pouvant alors se révéler faussement négatif.

Lors de la première lecture à 24 heures, tous les types de colonies isolés sont repiqués sur une gélose Columbia de façon à obtenir une culture pure. En l'absence de croissance bactérienne visible, on repique le bouillon d'enrichissement sur une gélose Columbia au sang de mouton à 5 %.

Lors de la deuxième lecture à 48 heures, on observe l'isolement direct et la culture après enrichissement. Si on observe de nouveaux types de colonies, ils sont isolés comme précédemment.

A ce stade, la lecture de l'isolement direct terminée, on peut conclure sur la qualité du prélèvement. Tout isolement de plus de deux types de colonies doit être considéré comme contaminé. Dans notre étude nous considérons que les prélèvements avec deux types de colonies sont des infections bi-microbiennes.

Tableau 6 : Evaluation de la qualité du prélèvement (d'après COFRAC/CNEVA<sup>4</sup>)

Nombre de types de colonies isolées	Conclusion
0	Prélèvement stérile
1	Prélèvement correct
2	Contamination ou infection bi-microbienne
> 2	Contamination du prélèvement

Lorsque l'isolement direct met en évidence un germe, on ne tient pas compte de l'enrichissement.

De même, dans notre étude nous considérerons comme douteux, tout résultat où aucune culture n'a été obtenue directement et où la bactérie isolée après enrichissement n'est pas une entérobactérie. Lorsqu'il n'y avait pas de culture à l'isolement direct et qu'une entérobactérie a été isolée après enrichissement, cette bactérie a été considérée comme étant responsable de la mammite. Il convient d'apporter cette précision, car le LIDAL de Seynod nous fournit toujours les résultats couplés de l'isolement direct et de l'enrichissement. Ces résultats nécessitent une interprétation.

- Identification

Nous ne détaillerons que les méthodes d'identification des principales espèces bactériennes employées par le LIDAL.

L'identification du genre est effectuée par l'aspect de colonies sur gélose, la réalisation d'une coloration de Gram, ainsi que la recherche de catalase pour les bactéries à Gram + et de l'oxydase pour les bactéries à Gram -.

Les Staphylocoques apparaissent ainsi comme des coques, à Gram + et catalase +. Le facteur d'affinité pour le fibrinogène ou « clumping factor » ou coagulase liée, est recherché par un test rapide sur lame. La coagulase libre n'est pas détectée par ce test. A l'issue de ce test tous les germes produisant une coagulase liée sont identifiés comme *S. aureus*. Si le germe est  $\beta$ -hémolytique et que la recherche de la coagulase liée soit négative, la coagulase

---

<sup>4</sup> COFRAC/CNEVA 1996 : Pr 116/00BA 140/00, Isolement et identification des principaux germes de mammites des ruminants.

libre est recherchée par un test en tube. A l'issue de ce deuxième test, les germes répondant positivement sont définitivement identifiés comme *S. aureus*.

Tous les autres germes sont qualifiés de SCN (staphylocoques à coagulase négative). Les SCN sont alors identifiés par l'étude de 20 caractères métaboliques, fermentaires, ADH sur des galeries Api Staph® de BIOMERIEUX. Il est certain que ce schéma de détermination qualifie de *S. aureus* des staphylocoques à coagulase positive non aureus (*S. intermedius*, certaines souches de *S. hyicus*...). De plus, certains SCP ne sont pas détectés. Ainsi tous les staphylocoques coagulase positive seront identifiés comme *S. aureus* dans la suite de l'étude. L'identification des SCN au niveau de l'espèce grâce aux galeries Api Staph® est peu fiable car on utilise qu'un nombre très limité de tests (BES et al 1999).

Les genres *Streptococcus* et *Enterococcus* sont identifiés comme des coques à Gram +, catalase – et oxydase -. On repique ensuite les colonies sur gélose par inondation. Puis l'espèce bactérienne est déterminée par la galerie Api20 Strep® qui explore 20 propriétés enzymatiques et de fermentation des germes.

Les Entérobactéries sont identifiées comme des bacilles à Gram -, catalase + et oxydase -. Ensuite l'identification du genre et de l'espèce bactérienne est réalisé grâce à la galerie Api20E®.

*Pseudomonas aeruginosa* est identifiée par la présence de pigments bleu-vert, une coloration de Gram négative, un test catalase +, la présence d'une oxydase. L'utilisation de la galerie Api20NE® permet de confirmer l'espèce.

Les Corynébactéries sont identifiées comme des bacilles irréguliers à Gram+. Ensuite on utilise la galerie ApiCoryne®.

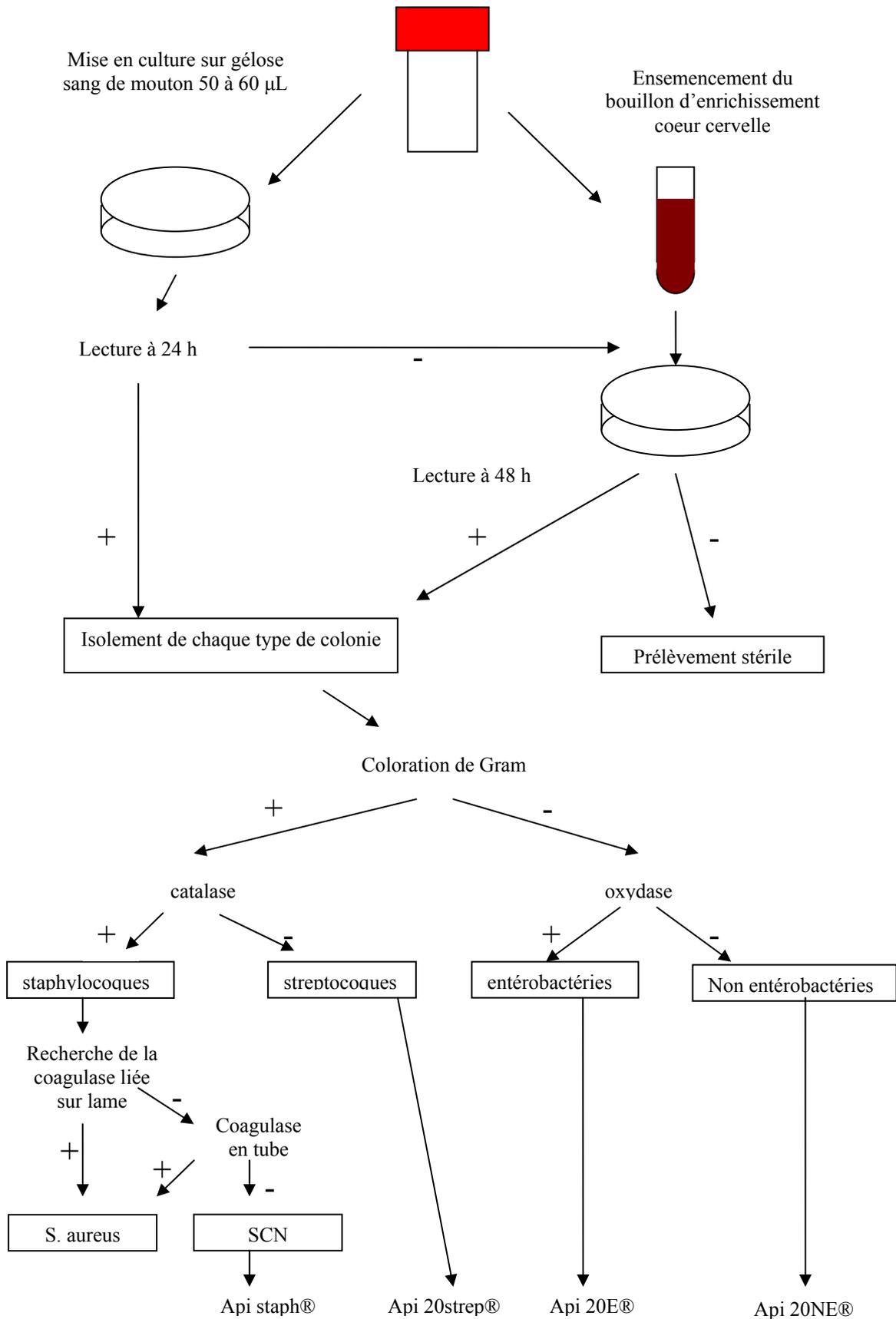


Figure 10: Représentation schématique de la méthode d'isolement et d'identification employée.

### 2.2.3.5. Collecte des données

Les données sont collectées sous la forme d'un tableau Excel®, qui répertorie pour chaque cas de mammite :

- le numéro de la vache
- le quartier atteint
- la date de détection de la mammite qui est aussi la date de réalisation du premier prélèvement
- le résultat de la première bactériologie à J0
- les résultats des 4 comptages cellulaires à J0, J6-J9, J10-J13, J14-J16, avec la date des prélèvements correspondants
- le résultat de la bactériologie de contrôle à J14-J16, ainsi que la date du prélèvement.

### 2.2.3.6. Exploitation des données

Les moyennes géométriques de comptages cellulaires obtenues sont comparées à l'aide d'un test non paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon.

Le test d'évaluation de la guérison de mammites est soumis à l'analyse ROC (Receiver Operating Characteristics).

## 2.3. Résultats

### 2.3.1. Répartition des résultats

Pendant les 30 mois de l'enquête, 117 cas de mammites ont été détectés et ont fait l'objet d'un examen bactériologique. Ces 117 cas ont été le départ des autres prélèvements.

Ensuite 61 cas ont fait l'objet d'un examen bactériologique de contrôle 15 jours plus tard.

Pour ce qui concerne les comptages cellulaires, seuls 57 cas ont fait l'objet d'un suivi régulier allant jusqu'à 14-17 jours après la détection du cas.

Enfin seuls 55 cas entrent dans le cadre du protocole d'origine, en fournissant deux bactériologies à J0 et à J15, ainsi qu'au minimum deux comptages cellulaires à J0 ainsi qu'à J15.

De nombreux prélèvements n'ont pas été effectués pour diverses raisons : jour férié ou week-end, changement d'équipe de traite.... Le centre d'élevage de Poisy n'est pas une station expérimentale, il est toujours difficile d'y respecter un protocole à la lettre.

### 2.3.1.1. Répartition des cas de mammite clinique au cours du temps

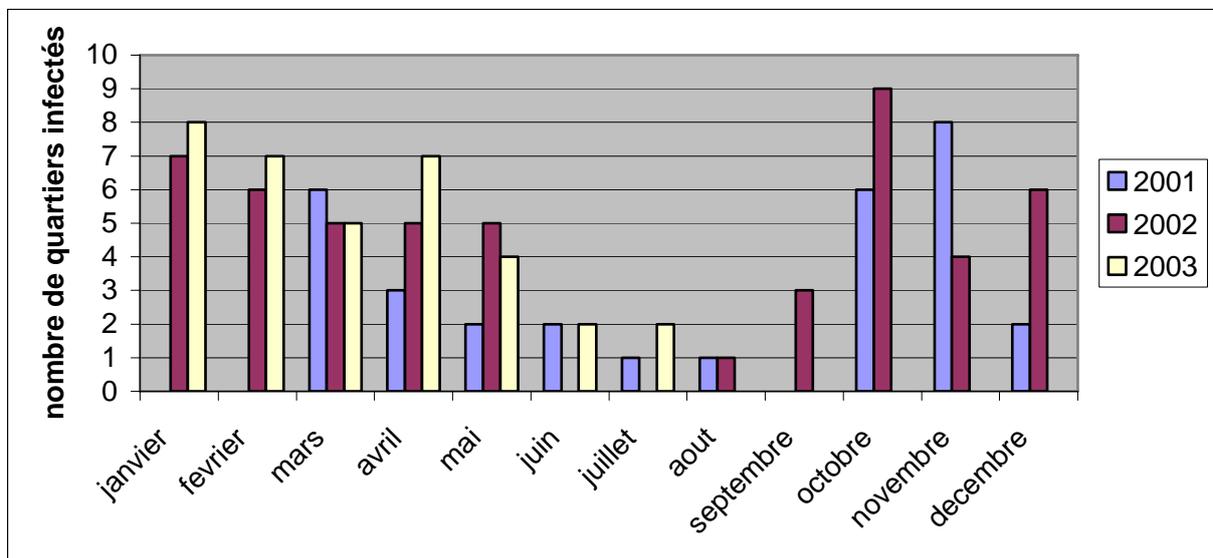


Figure 11: Répartition des cas de mammites cliniques au cours des trois années de l'étude

Au centre d'élevage de Poisy, les mammites se rencontrent toute l'année sauf en été où le nombre de mammites décroît fortement. Il est important de préciser que les vêlages sont répartis sur toute l'année. Il semble donc que la période de pâturage permanent l'été diminue le risque de mammites.

Nous allons dans une première partie exposer les résultats bactériologiques et les comptages cellulaires dans une seconde partie.

## 2.3.2. Résultats bactériologiques

### 2.3.2.1. Bactériologie le jour de la mammite

Comme nous l'avons vu, les 117 cas de mammite ont fait l'objet d'un prélèvement initial pour mettre en évidence le germe en cause.

Sur ces 117 prélèvements nous comptons :

- 19 prélèvements pour lesquels aucune culture n'a été obtenue<sup>5</sup>
- 4 prélèvements contaminés (à partir de trois types de colonies)
- 13 prélèvements douteux<sup>6</sup>
- 81 prélèvements où le(s) germe(s) isolé(s) est (sont) bien l'agent de la mammite.

Parmi ces 81 prélèvements, 78 sont mono-bactériens et 3 bi-bactériens.

La figure 12 ci-dessous fournit les résultats de la bactériologie pratiquée le jour de la mammite. Les différents germes isolés à cette occasion et leurs fréquences sont représentés par la figure 13.

---

<sup>5</sup> Les prélèvements pour lesquels aucune culture n'a été obtenue seront qualifiés de stériles dans la suite de l'étude.

<sup>6</sup> Dans notre étude nous considérerons comme douteux tout résultat où aucune culture n'a été obtenue directement et où la bactérie isolée après enrichissement n'est pas une entérobactérie

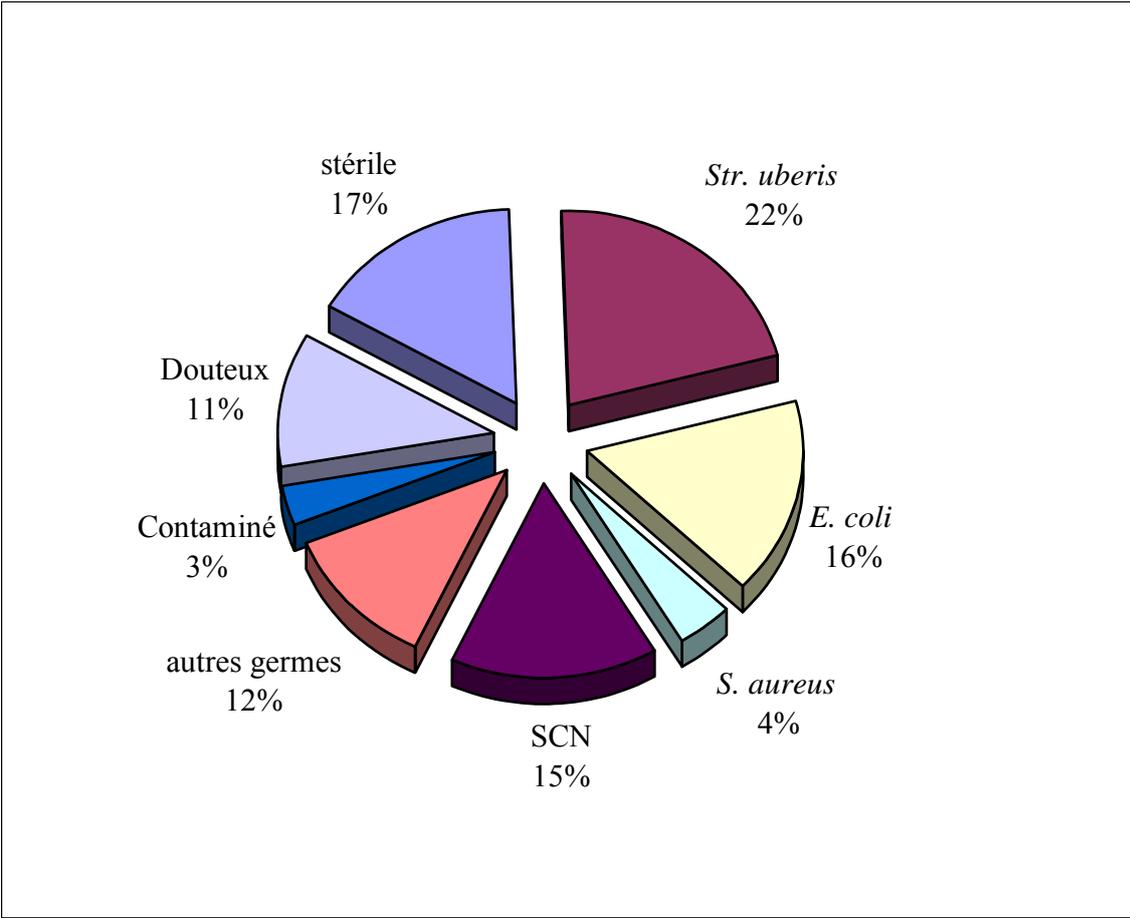
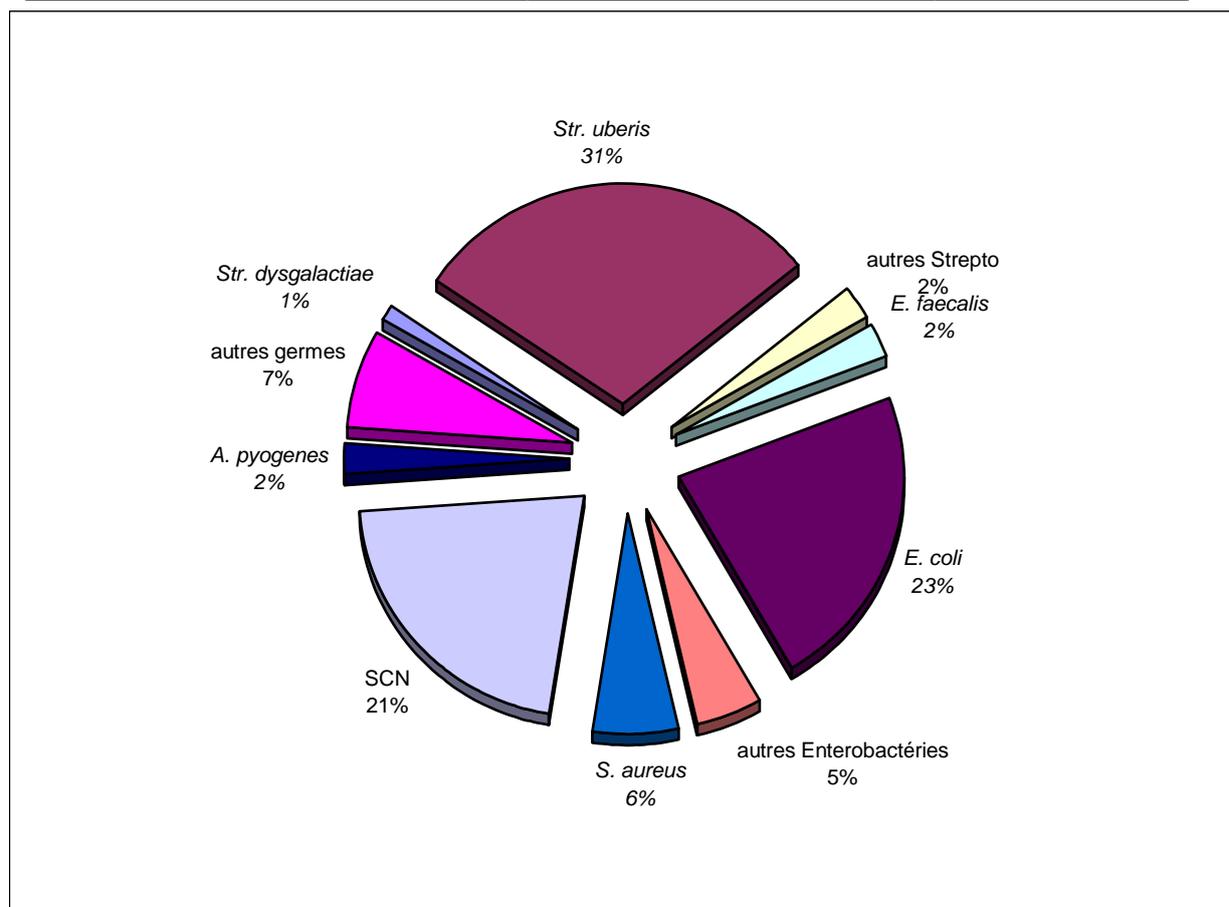


Figure 12: Résultats de la bactériologie le jour de la mammite.

**Tableau 7: Répartition des différents germes isolés seuls, ou en association lors de mammite clinique.**

germe isolé	nombre d'isolement	%
<i>Streptococcus uberis</i>	25	29,8%
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	1,2%
<i>Streptococcus bovis</i>	1	1,2%
<i>Streptococcus mutans</i>	1	1,2%
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	2,4%
<i>Escherichia coli</i>	19	22,6%
<i>Enterobacter amnigenus</i>	1	1,2%
<i>Proteus vulgaris</i>	1	1,2%
<i>Klebsiella</i> sp.	2	2,4%
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	6,0%
SCN	18	21,4%
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	2	2,4%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1,2%
<i>Bacillus subtilis</i>	2	2,4%
Bacille à gram+ non identifié	1	1,2%
<i>Candida tropicalis</i>	1	1,2%
<i>Aspergillus</i> sp.	1	1,2%
total	84	100,0%



**Figure 13: Fréquence des différents germes isolés de mammites cliniques à J0, seul ou en association.**

*Streptococcus uberis* est le germe le plus souvent isolé (31%), ensuite vient *Escherichia coli* (23%). *Staphylococcus aureus* est peu isolé (6%) comparé au groupe de Staphylocoques à coagulase négative (21%). Enfin on note que *Streptococcus dysgalactiae* est très rarement isolé (1%). Il faut remarquer aussi l'isolement de deux espèces non bactériennes : la levure *Candida tropicalis* et le mycète *Aspergillus*.

Compte tenu de ces résultats le modèle épidémiologique dominant dans l'élevage est le modèle mammites d'environnement, *Str. uberis* et les entérobactéries représentent 59 % des isolements.

Pour information le groupe des SCN est réparti comme suit :

Tableau 8: Espèces de SCN isolées.

germe	nombre d'isolements
<i>S. chromogenes</i>	2
<i>S. epidermidis</i>	1
<i>S. haemolyticus</i>	3
<i>S. hyicus</i>	3
<i>S. sciuri</i>	3
<i>S. simulans</i>	1
<i>S. warneri</i>	1
<i>S. xylosum</i>	1
SCN non typé	3

Enfin 3 échantillons contenaient 2 espèces bactériennes en association :

- *Str. uberis* et *Proteus vulgaris*
- *Str. uberis* et *Enterobacter amnigenus*
- *S. aureus* et *Bacillus subtilis*.

### 2.3.2.2. Bactériologie de contrôle à J15

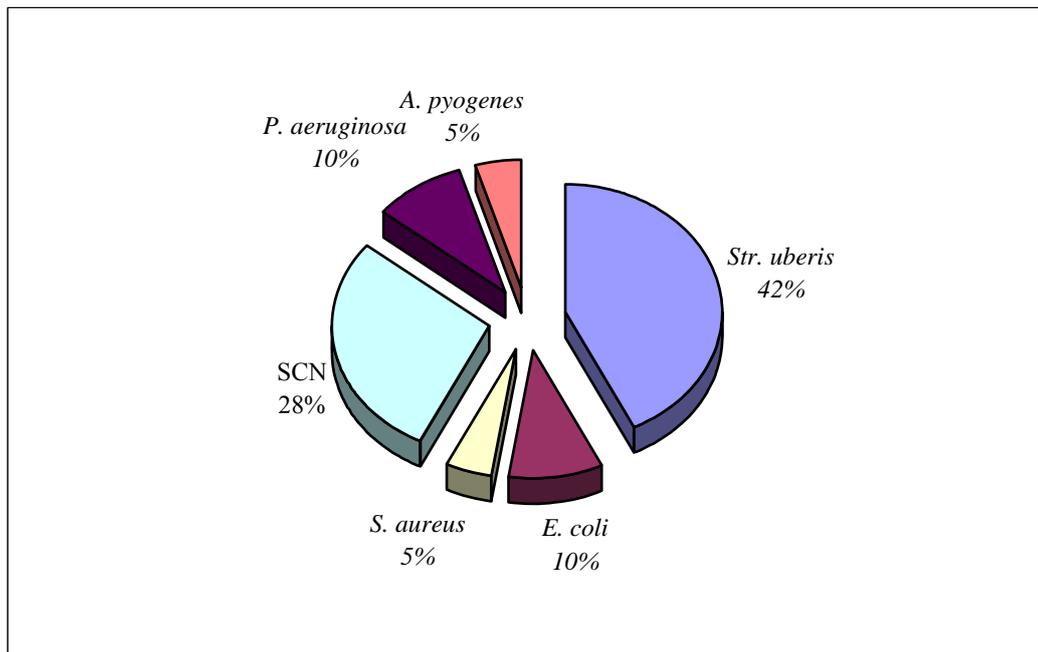
Les prélèvements réalisés 15 jours après la détection de la mammite sont répartis comme suit :

- 41 prélèvements stériles
- un prélèvement contaminé
- 19 prélèvements sûrs, dont deux bi-microbiens et 17 mono-microbiens.

Le tableau 9 et la figure 14 montrent les fréquences des germes isolés à J15.

**Tableau 9: Germes isolés à la bactériologie de contrôle, seuls ou en association.**

Germe	nombre d'isolement	pourcentage
<i>Streptococcus uberis</i>	9	42,86%
<i>Escherichia coli</i>	2	9,52%
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	4,76%
SCN	6	28,57%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	9,52%
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	1	4,76%
Total	21	100,00%



**Figure 14: Fréquence des germes isolés à la bactériologie de contrôle à J15, seuls ou en association.**

Les deux associations de germes rencontrées sont :

- *Staphylococcus hyicus* et *Staphylococcus warneri*
- *Escherichia coli* et *Streptococcus uberis*.

### 2.3.2.3. Estimation de la guérison bactériologique des quartiers

On utilise pour faire cette estimation les 55 cas de mammites pour lesquels on dispose des deux bactériologies et des comptages cellulaires.

Pour classer les cas en guéri/non guéri nous avons considéré trois cas de figure :

- Si la bactériologie à J15 est stérile, quel que soit le résultat de la première bactériologie le quartier est considéré comme guéri bactériologiquement.
- Si le résultat de la bactériologie est le même à J15 qu'à J0, le quartier est non guéri, l'infection est persistante.
- Si le germe isolé à J15 est différent du germe isolé à J0, le quartier est qualifié de non guéri, il y a eu une nouvelle infection.

La figure 15 indique les fréquences des germes isolés à la première bactériologie pour les 55 cas analysés. On remarque que les fréquences d'isolement sont sensiblement les mêmes que pour l'ensemble des 117 cas de mammites étudiés auparavant.

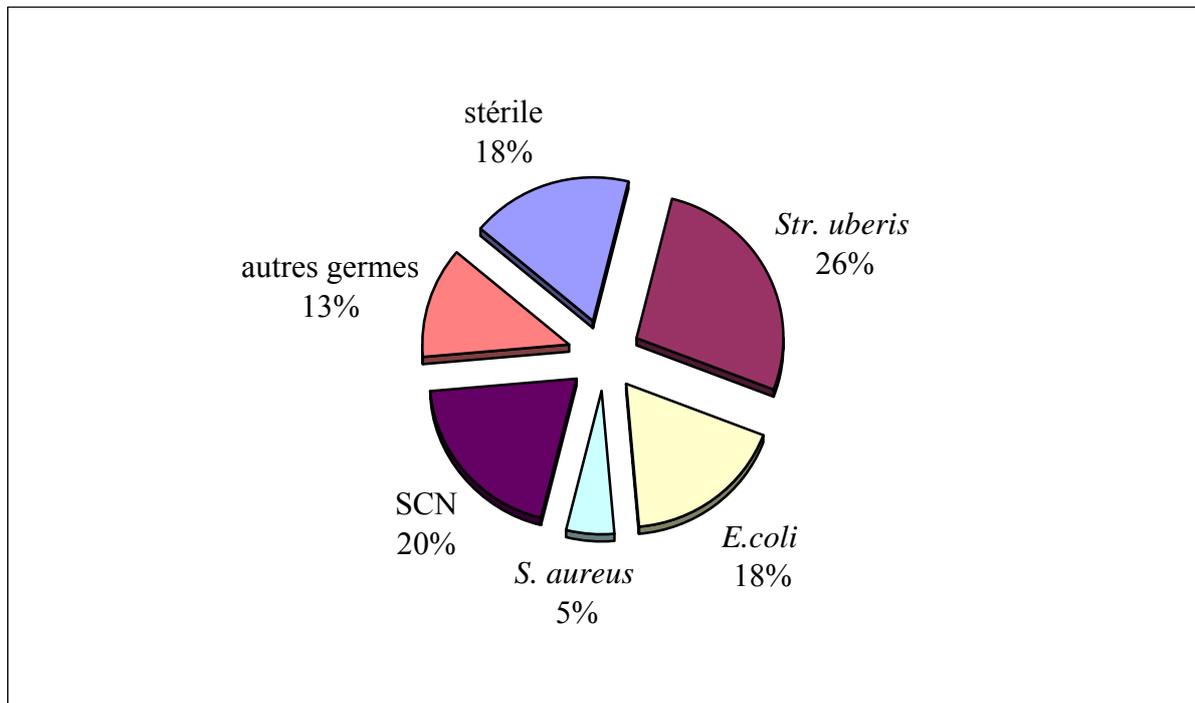


Figure 15: Résultat de la première bactériologie des 55 cas analysés.

### 2.3.2.3.1. Estimation de la guérison tous germes confondus.

Il faut préciser que parmi les 55 cas analysés, on compte quatre bactériologies initiales qualifiées de douteuses, mais on ne retrouve aucune bactériologie douteuse lors du contrôle à J15.

Pour ces 55 cas de mammites, ont été observés :

- 39 guérisons,
- 12 infections persistantes,
- trois nouvelles infections,
- un cas non déterminé car le prélèvement à J15 était contaminé.

On obtient donc un taux de guérison bactériologique 15 jours après la mammite de 72,2 %. Le taux de persistance des infections est de 22.2 %. Le taux de nouvelles infections entre les deux prélèvements est de 5.6 %.

### 2.3.2.3.2. Estimation de la guérison pour les germes les plus souvent isolés

#### 2.3.2.3.2.1. *Escherichia coli*

Neuf cas sur dix d'infection initiale par *E. coli* ont été analysés. Un cas n'apporte pas de conclusion car le prélèvement à J15 était contaminé. Sur les neuf cas, le taux de guérison bactériologique est de 100 %.

#### 2.3.2.3.2.2. *Streptococcus uberis*

Quinze cas ont été analysés. Le taux de guérison bactériologique est de 33 % (5/15). Le taux d'infections persistantes de 53 % (8/15). Le taux de nouvelles infections entre les deux prélèvements de 14 % (2/15).

### 2.3.2.3.2.3. Staphylocoques à coagulase négative

Onze cas ont été analysés. Le taux de guérison bactériologique est de 73 % (8/11). Le taux d'infections persistantes de 18 %. Et le taux de nouvelles infections entre les deux prélèvements de 9 % (1/11).

### 2.3.2.3.2.4. *Staphylococcus aureus*

Trois cas ont été analysés. Le taux de guérison bactériologique est de 2/3. Le taux de persistance de 1/3.

Pour les autres germes on n'a qu'un seul isolement initial ne permettant pas de tirer des conclusions valables.

Précisons aussi que les quartiers, dont les prélèvements étaient stériles le jour de la mammite (10 cas), se sont tous révélés de nouveau stériles 15 jours après.

Tableau 10: Taux de guérison bactériologique 15 jours après la mammite pour chaque catégorie de germe rencontrée.

Bactériologie à J0	Nombre	Guérison à J15	persistance	Nouvelle infection
Sterile	10	ND	0	0
<i>St. uberis</i>	15	5 (33 %)	8 (53 %)	2 (14 %)
<i>E. coli</i>	9 (+ 1 contamination)	9 (100 %)	0	0
<i>S. aureus</i>	3	2 (67 %)	1 (33 %)	0
SCN	11	8 (73 %)	2 (18 %)	1 (9 %)
Autres germes	7	5 (71 %)	2 (29 %)	0

### 2.3.3. Résultats des comptages cellulaires du lait de quartier

#### 2.3.3.1. Répartition des résultats

Pour compléter les données obtenues pendant notre étude, qui ne compte que 55 cas exploitables, nous avons ajouté les données obtenues par M. FLACHE en 1998 dans le même élevage, les mêmes conditions expérimentales, par un protocole similaire (FLACHE, 2002). On obtient alors 112 cas de mammites pour lesquels on dispose de 2 bactériologies à J0 et J15, ainsi que deux comptages cellulaires.

La répartition des résultats bactériologiques est modifiée car Flache avait une forte prévalence de mammites à *S. aureus*.

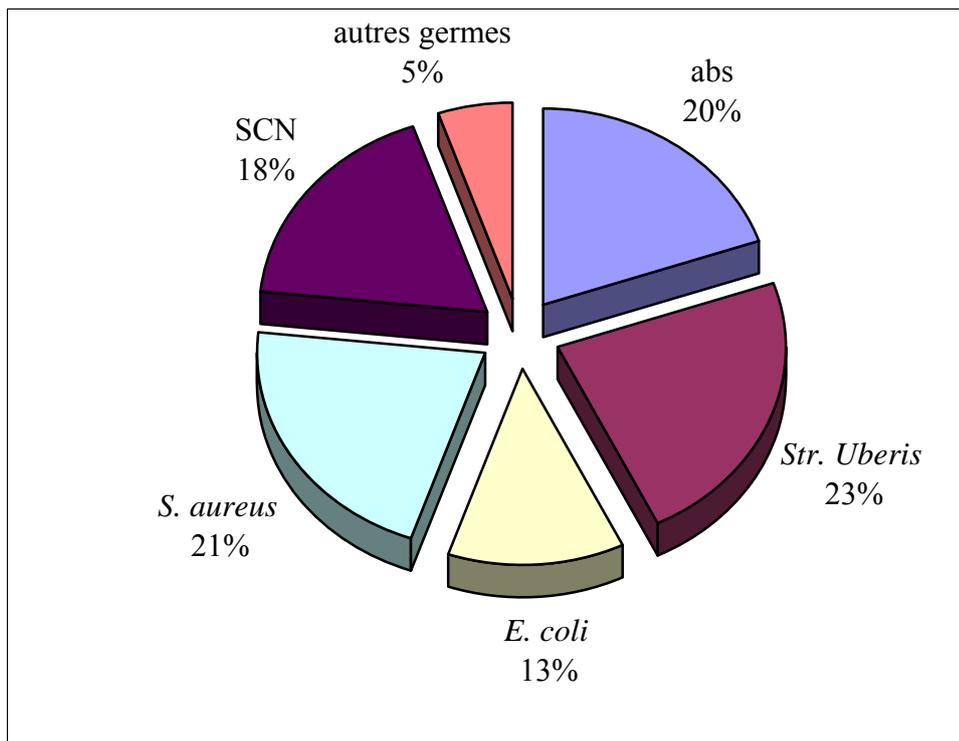


Figure 16: Germes isolés le jour de la mammité pour les 112 cas servant aux comptages cellulaires

Sur ces 112 cas, les prélèvements bactériologiques à J15 se répartissent comme suit :

- 75 guérisons bactériologiques
- 27 non guérisons

- 10 nouvelles infections.

Les 10 cas de nouvelles infections ont été exclus de l'étude.

**Tableau 11: Moyennes des comptages cellulaires de quartier des différents groupes en fonction de la bactérie et de la guérison ou non du quartier à J15.**

Infection initiale	Statut bactériologique du quartier	n	moyenne géométrique (* 1000/ml)	écart type (*1000/ml)
<i>S. aureus</i>	Guéris	13	66,52**	292,44
	non guéris	10	713,45**	2540,75
SCN	Guéris	13	120,68	577,10
	non guéris	4	339,70	1478,77
<i>Str. uberis</i>	Guéris	11	140,77**	1111,15
	non guéris	10	2138,06**	4547,93
<i>E. coli</i>	Guéris	13	697,96	2821,26
	non guéris	1	ND (1500)	ND

\*\* différence significative entre les moyennes des guéris et non guéris ( $p < 0.01$ ) (test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

Comme le montre le tableau ci-dessus, on observe bien une différence entre les comptages cellulaires à J15 des quartiers guéris et non guéris. Cette différence est statistiquement significative pour *Str. uberis* et *S. aureus*. Le faible nombre de données concernant les SCN et *E. coli* ne nous permet pas de conclure à une différence significative. Les moyennes des CCQ des quartiers guéris sont toujours plus faibles à J15 que celles des quartiers non guéris.

Nous pouvons donc envisager à priori d'utiliser les CCQ pour évaluer la guérison des mammites 15 jours après le traitement.

### 2.3.3.2. Essai d'un test basé sur le comptage cellulaire du quartier infecté pour évaluer sa guérison à J15

Nous avons voulu ensuite examiner la capacité d'un test à détecter les quartiers non guéris 15 jours après la mammite, test basé sur la comparaison à une valeur seuil du comptage cellulaire effectué 15 jours après le début du traitement. On a utilisé comme test de référence le résultat de la bactériologie effectuée 15 jours après le début du traitement.

Le principe du test est le suivant : si le CCQ est supérieur ou égal à la valeur seuil, le quartier est déclaré non guéri. Si le CCQ est inférieur au seuil, le quartier est déclaré guéri.

### 2.3.3.2.1. Qualités intrinsèques et extrinsèques du test

Différentes valeurs seuils ont été testées, pour chacune d'elles on donne la sensibilité (Se.), la spécificité (Sp.), la valeur prédictive positive (VPP), la valeur prédictive négative (VPN), ainsi que la précision du test qui est sa capacité à fournir une réponse exacte aussi bien positive que négative.

Valeur seuil (cell/ml)	sensibilité	Spécificité	VPN	VPP	précision
100 000	0,85	0,63	0,92	0,45	0,69
200 000	0,81	0,71	0,91	0,50	0,73
500 000	0,70	0,77	0,88	0,53	0,75

Tableau 12: Qualités intrinsèques et extrinsèques du test suivant trois valeurs seuils (N=112).

Nous avons aussi examiné les qualités du test pour chacun des germes les plus fréquemment rencontrés. Nous n'avons pas pris en compte *E. coli* car nous n'avons qu'un seul cas de non guérison bactériologique à J15.

germe	Valeur seuil (cell/ml)	sensibilité	Spécificité	VPN	VPP	précision
<i>S. aureus</i>	100 000	0,90	0,69	0,90	0,69	0,78
	200 000	0,80	0,85	0,85	0,80	0,83
	500 000	0,80	0,85	0,85	0,80	0,83
<i>Str. uberis</i>	100 000	0,90	0,55	0,86	0,64	0,68
	200 000	0,90	0,64	0,88	0,69	0,73
	500 000	0,90	0,64	0,88	0,69	0,73
SCN	100 000	0,50	0,69	0,82	0,33	0,65
	200 000	0,50	0,69	0,82	0,33	0,65
	500 000	0,50	0,69	0,82	0,33	0,65

Tableau 13: Qualités intrinsèques et extrinsèques du test pour différentes espèces bactériennes.

Les performances du test diffèrent beaucoup suivant le germe en cause dans la mammité. Elles sont meilleures pour les mammites à *S. aureus*, pour un seuil de 100 000 cellules par ml on peut espérer une sensibilité correcte (90%), une spécificité proche de 70%, la précision est proche de 80% ce qui signifie que le test donne une réponse exacte dans 80% des cas.

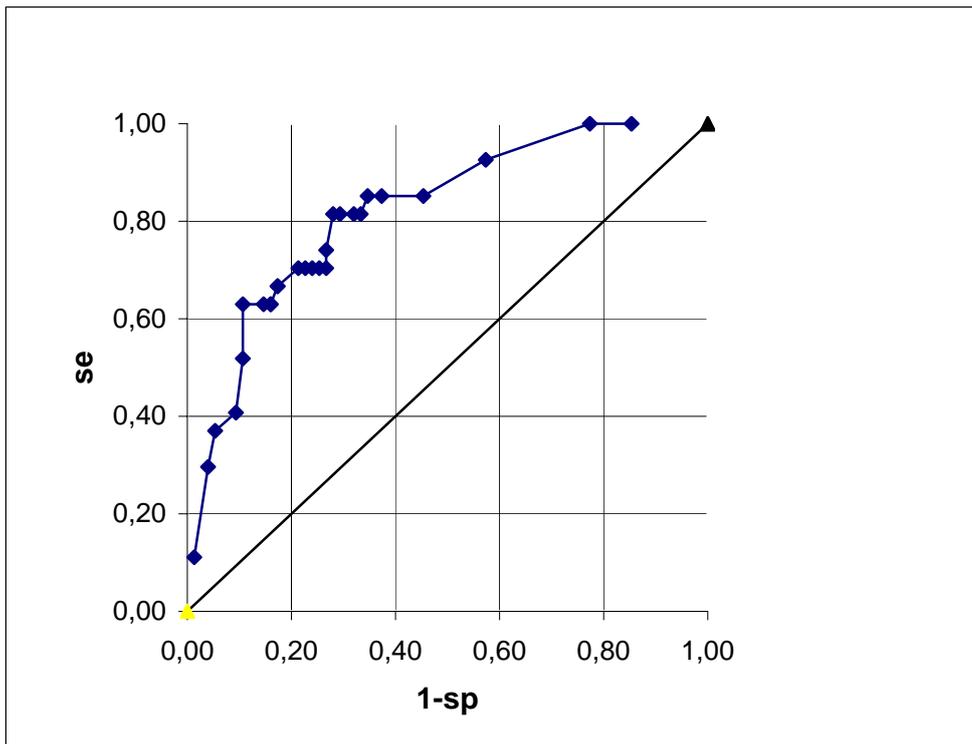
Dans le cas de mammites à *Str. uberis* le test perd en spécificité, le nombre de faux positifs augmente. La valeur seuil semble être plus élevée (200 000 cell /ml voire 500 000 cell /mL).

Pour ce qui est des mammites causées par des staphylocoques à coagulase négative, la sensibilité du test est faible (50%), sans doute parce que l'inflammation du quartier est moindre donc le taux cellulaire aussi.

On note aussi que la valeur prédictive négative du test (VPN) reste assez élevée, elle est proche de 90 % pour les mammites dues à des pathogènes majeurs comme *S. aureus* et *Str. uberis*, et reste supérieure à 80 % pour les SCN. Ceci suggère que le test détecte bien les guérisons bactériologiques des quartiers. Mais la VPN est dépendante de la prévalence de l'état recherché par le test dans la population sur laquelle est appliqué le test. Ainsi la VPN obtenue dans nos résultats dépend du taux de guérison des quartiers après mammité dans l'élevage de Poisy. Cette valeur n'est en aucun cas extrapolable à d'autres élevages.

#### 2.3.3.2.2. Analyse ROC du test

Pour mieux illustrer les performances du test, nous avons établi des courbes ROC (receiver operating characteristics) pour chaque condition d'utilisation du test. Pour différentes valeurs seuils, sensibilité et spécificité sont combinées pour former une courbe dans un graphique avec 1-Sp en abscisse et Se en ordonnée. L'analyse ROC permet une représentation des performances d'un test et la comparaison de différents tests entre eux ou la comparaison d'un même test appliqué à des populations différentes.



**Figure 17: Courbe ROC analysant le comportement du test pour différentes valeurs seuils allant de 25 000 à 1 000 000 de cell/mL.**

La courbe ROC donne une image des performances d'un test. Pour tout test, on recherche à la fois la meilleure spécificité et la meilleure sensibilité. Ainsi, plus la courbe se rapproche du point d'ordonnée 1 et d'abscisse 0, (le coin en haut à gauche du graphique), plus le test est performant. On calcule l'aire sous la courbe qui est alors très élevée (proche de 1). Un test dont l'aire sous la courbe est de 0,5 est considéré sans valeur diagnostique.

Le test appliqué à tous les germes présente des performances très moyennes, comme le suggère déjà le tableau 12 page 69.

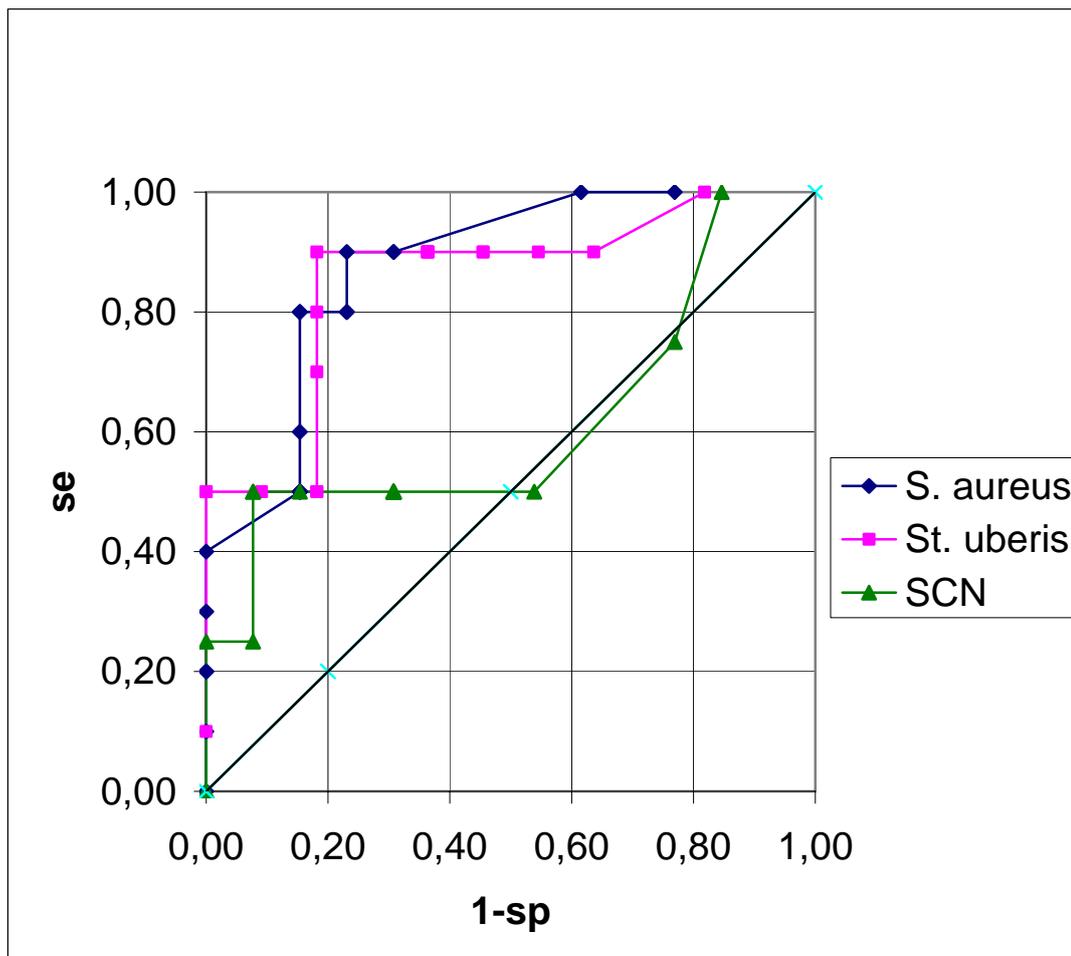


Figure 18: Courbe ROC du test appliqué au trois groupes de germes principalement rencontrés.

En comparant le test appliqué séparément à *S. aureus*, *Str. uberis* et les staphylocoques à coagulase négative, on remarque que les performances du test sont légèrement augmentées pour *S. aureus* (figure 18 et 19) et *Str. uberis* (figure 18) et sont équivalentes (figure 18). Par contre pour ce qui concerne les SCN, les performances du test sont très dégradées, le test n'a plus de valeur diagnostique dans ce cas. Nous n'avons pas pu réaliser d'analyse ROC pour les mammites dues à *E. coli* car nous ne disposons pas d'assez de données.

Un test basé sur une valeur seuil de comptage cellulaire par quartier semble donc assez performant pour distinguer les quartiers guéris des non guéris dans le cas de mammites dues à *S. aureus* ou *St. uberis*, mais les valeurs seuils à employer diffèrent suivant le germe, 100 000 cell/mL pour *S. aureus* et 200 000 voire 500 000 cell/mL pour *St. uberis*.

L'emploi de ce test sur des mammites d'origines diverses et non connues est possible, mais il faudra s'accommoder de performances amoindries par la présence des SCN, pour lesquels le test est peu performant.

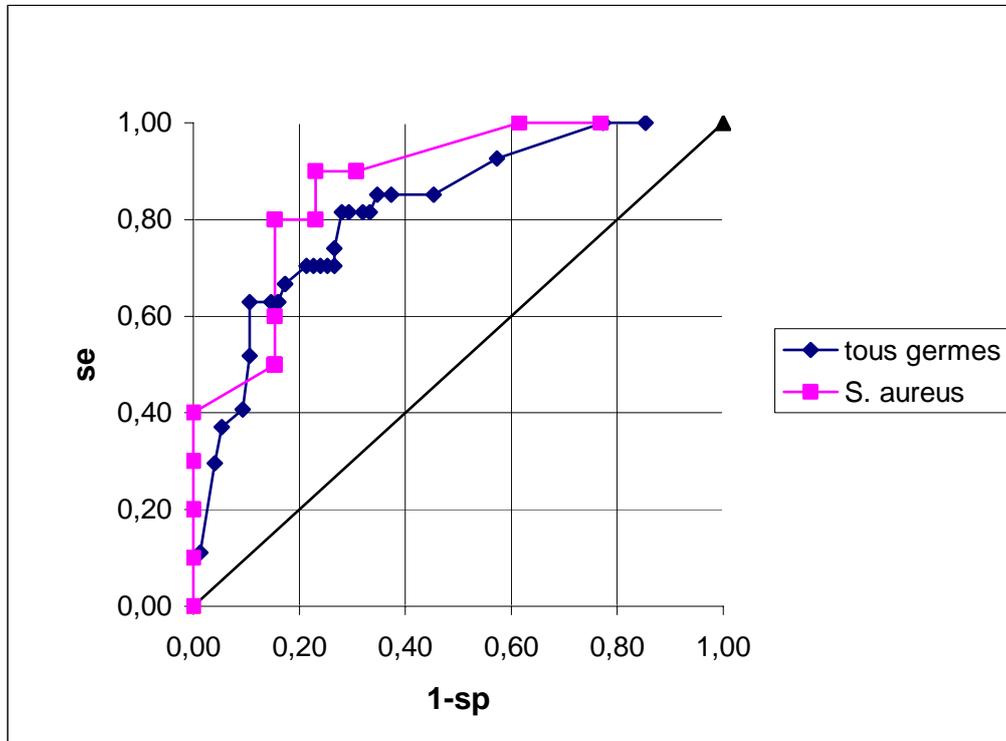


Figure 19: Comparaison des courbes ROC du test appliqué à *S. aureus* et à tous les germes rencontrés dans l'étude.

## 2.4. Discussion

### 2.4.1. Résultats bactériologiques

Pour étayer la discussion de nos résultats bactériologiques nous nous appuyerons sur deux études françaises récentes et deux études étrangères :

L'enquête de FABRE concerne les résultats d'essais contrôlés de traitement de mammites cliniques réalisés dans 27 élevages répartis sur tout le territoire français de février 1995 à février 1996 (FABRE *et al* 1997).

L'enquête d'ARGENTE regroupe les résultats de prélèvements réalisés de 1996 à 2004 dans 928 troupeaux de l'ouest de la France suivis pour des problèmes de mammites cliniques ou sub-cliniques par le GDS 22. Ne sont présentés que les résultats de prélèvement lors de mammite clinique (ARGENTE *et al* 2005).

L'enquête de MILTEMBOURG évalue l'incidence et la distribution des germes pathogènes dans 171 élevages laitiers du Sud des Pays-Bas (MILTEMBOURG *et al* 1996).

L'enquête de SARGEANT décrit la fréquence et l'étiologie des mammites cliniques dans 65 élevages laitiers de l'état d'Ontario au Canada pendant deux ans (SARGEANT *et al* 1998).

Ces quatre enquêtes ne concernent que les mammites cliniques. De plus elles prennent en compte tous les cas de mammites survenus dans les élevages, et pas seulement les mammites qui ont nécessité l'intervention d'un vétérinaire. En effet de très nombreuses enquêtes sont régulièrement publiées par les laboratoires d'analyses sur la base de leur activité mais elles ne reflètent pas la réalité du terrain en occultant la majorité des mammites qui sont traitées avec succès par l'éleveur lui-même.

#### 2.4.1.1. Prélèvements stériles et douteux

Nos résultats de bactériologie comptent presque un tiers de résultats stériles ou douteux (19+13 lors de la première bactériologie soit 28 %). Cette importance des résultats stériles se retrouve dans d'autres études françaises ou étrangères : 9 % (ARGENTE *et al* 2005), 31 % (FABRE *et al* 1997), 27.4 % (MILTENBURG *et al* 1996), 17.6 % (SARGEANT *et al* 1998).

On peut expliquer l'absence de culture bactérienne de plusieurs manières. Tout d'abord on peut avoir une inflammation de la mamelle sans infection ce qui est rare ; le prélèvement est vraiment stérile.

Le prélèvement ressort stérile bien que l'étiologie soit infectieuse : la première éventualité est la présence d'antibiotiques dans le lait qui empêchent les germes de cultiver, mais dans notre étude la totalité des prélèvements à J0 a été réalisée avant de mettre en place le traitement antibiotique. Les prélèvements à J15 ont été réalisés après une période bien supérieure au délai d'attente des spécialités intramammaires employées.

On peut aussi envisager le cas d'une mammite infectieuse pour laquelle le lait est réellement stérile au moment du prélèvement car le germe a été éliminé naturellement. Ceci est décrit dans le cas de mammites aiguës à entérobactéries, les bactéries produisent des endotoxines responsables des symptômes qui ne sont libérées qu'après la lyse des corps bactériens. Ainsi au moment où la mammite s'exprime cliniquement, la plupart des bactéries responsables sont déjà détruites (EBERHART *et al* 1979). On pourrait ainsi sous estimer l'incidence des mammites à entérobactéries dans notre étude où *E. coli* est la deuxième espèce bactérienne responsable de mammite.

Le milieu de culture peut être inapproprié pour certaines espèces bactériennes aux exigences de culture particulières. Dans notre étude le milieu d'isolement utilisé ne permet pas la mise en évidence des mycoplasmes. Par ailleurs l'épidémiologie des mammites dans le centre d'élevage nous laisse croire que les mycoplasmes n'y sont pas responsables de mammites. On n'observe aucune mammite avec infection simultanée des quatre quartiers comme cela est classiquement décrit lors de mammites à mycoplasmes. De plus les facteurs de risques liés aux infections mammaires à mycoplasmes sont une grande taille de troupeau et une mauvaise maîtrise des conditions d'hygiène de la traite, ce qui n'est pas le cas de l'élevage de Poisy. Une étude récente de recherche de *Mycoplasma bovis* par PCR sur les laits de tanks de 101 élevage en Pays de Loire n'a pas mis en évidence la présence du germe ; ce qui laisse entendre que la prévalence des infections mammaires à *Mycoplasma bovis* est très faible en France (LEMARCHAND *et al* 2005).

Il convient aussi de connaître les limites des méthodes d'isolements employées en routine dans les laboratoires. La sensibilité des méthodes de cultures standard pour l'isolement de *S. aureus* est estimée à 75% (SEARS *et al* 1990).

Enfin la congélation est connue pour entraîner une disparition notable d'*E. coli* et *A. pyogenes* dans les prélèvements (SCHUKKEN *et al* 1989). Mais dans notre étude la

congélation des prélèvements est exceptionnelle compte tenu de la proximité du laboratoire de Seynod.

#### 2.4.1.2. Prélèvements contaminés

Dans notre étude seulement 3 % des prélèvements se sont révélés contaminés, c'est-à-dire contenant plus de deux espèces bactériennes. Dans les études auxquelles nous comparons nos résultats les prélèvements contaminés représentent de 3 à 8.3 % des prélèvements. Le faible pourcentage de prélèvements contaminés signe une bonne maîtrise du geste du prélèvement par les intervenants de l'élevage de Poisy, bien que la personne effectuant les prélèvements n'ait pas été toujours la même, ainsi qu'une bonne préparation de la mamelle. De plus les conditions dans lesquelles sont réalisés les prélèvements influent beaucoup sur leur qualité : éclairage insuffisant, poussière dans la salle de traite ...

#### 2.4.1.3. Résultats de bactériologie à Poisy, évolution dans le temps

Notre étude permet de caractériser le type de mammite principalement rencontré à Poisy : les mammites dites d'environnement. En effet presque 60 % des isollements bactériens mettent en évidence *Str. uberis* ou un Coliforme.

On note aussi à Poisy que la troisième catégorie de germes mise en évidence sont les staphylocoques à coagulase négative qui représentent 21 % des isollements bactériens, ce qui est beaucoup pour un groupe de germes réputés pathogènes mineurs.

Actuellement *Staphylococcus aureus* n'est plus rencontré que dans 6 % des isollements. Mais cette situation n'a pas toujours été à Poisy comme en témoignent les résultats des enquêtes de FLACHE et FALLET.

Tableau 14: Répartition des isoléments bactériens lors de trois études à Poisy.

germe	Fallet (04/ 97 à 07/98)	Flache (09/98 à 05/99)	Noireterre (03/01 à 07/03)
<i>Str. uberis</i>	18,4%	20,3%	31,0%
<i>Str. dysgalactiae</i>	5,3%	1,4%	1,0%
<i>Str. agalactiae</i>	0,0%	0,0%	0,0%
autres St.	2,6%	4,1%	4,0%
<i>E. coli</i>	23,7%	6,8%	23,0%
autres Coliformes	2,6%	0,0%	5,0%
<i>S. aureus</i>	36,8%	45,9%	6,0%
SCN	10,5%	20,5%	21,0%
divers	0,0%	0,0%	9,0%

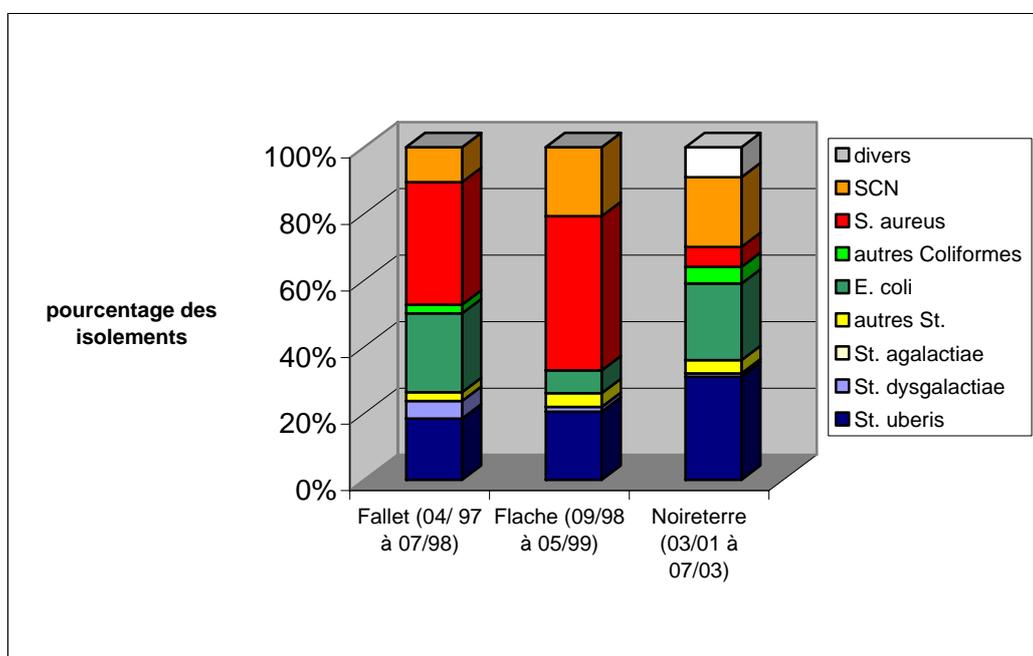


Figure 20: Répartition des isoléments bactériens lors de trois études à Poisy.

Lors des études de FLACHE et FALLET le protocole d'isolement et d'identification bactériologique était le même que celui que nous avons employé.

On note qu'auparavant dans le troupeau de l'élevage de Poisy, *S. aureus* était le premier germe responsable de mammite, suivi des coliformes et de *Str. uberis*. En mai 1998 Flache met en évidence une véritable épizootie de mammites à *S. aureus*, avec 34 cas de mammites cliniques en un mois dont 22 isoléments de *S. aureus* (FLACHE 2002). Mais le problème des mammites à *S. aureus* est latent dans l'élevage avec 37 % des isoléments

attribués au germe en question par FALLET en 97 et 98. En parallèle à ce problème de mammites contagieuses, l'élevage a toujours été confronté à des mammites d'environnement.

Entre 1999 et 2001 le technique de traite de l'élevage a été modifiée (abandon des lavettes individuelles et passage au pré-trempe et papier à usage unique). Suite à l'épizootie de mai 1999, on a mis en évidence une défaillance de la machine à laver avec laquelle les lavettes étaient désinfectées après chaque traite (la machine ne chauffait plus l'eau de lavage). De plus des améliorations ont été apportées au bâtiment : sa ventilation a été modifiée. Depuis 2000 les vaches ne couchent plus dans la stabulation pendant la saison de pâturage qui a été allongée.

Les résultats de notre étude permettent de conclure que les mesures mises en places depuis 1999 pour contrôler les mammites ont bien fonctionné. L'incidence des mammites attribuées à *S. aureus* est ainsi passée de 40 % environ à 6 %. Parallèlement le nombre de cas de mammites a diminué au sein du troupeau.

Par contre au fil des années la part des staphylocoques à coagulase négative ne cesse d'augmenter dans l'élevage pour atteindre aujourd'hui plus de 20 % des isollements en culture pure (figure 20).

Quelle que soit l'année considérée on constate à Poisy l'absence de *Str. agalactiae* (figure 20). On pense que son éradication des élevages depuis une vingtaine d'années est due à l'emploi systématique d'un traitement antibiotique au tarissement, l'élevage de Poisy ne faisant pas exception. Ce germe était l'agent de mammite le plus souvent rencontré dans les années 40 et 50 avant le développement de la traite mécanique. On pense aussi que l'arrêt de la traite manuelle a permis aussi de diminuer sa prévalence (MYLLYS and al 1994), car les mains du trayeur, vecteur principal du germe ne sont plus en contact prolongé avec la mamelle.

On note aussi à Poisy la quasi absence d'un autre pathogène majeur : *Str. dysgalactiae*. On associe souvent la diminution de sa prévalence avec la mise en place des mesures de pré-trempe des trayons lors de la préparation de la mamelle à la traite ainsi qu'au post-trempe des trayons en fin de traite. Ce germe est en effet un commensal de la peau du trayon.

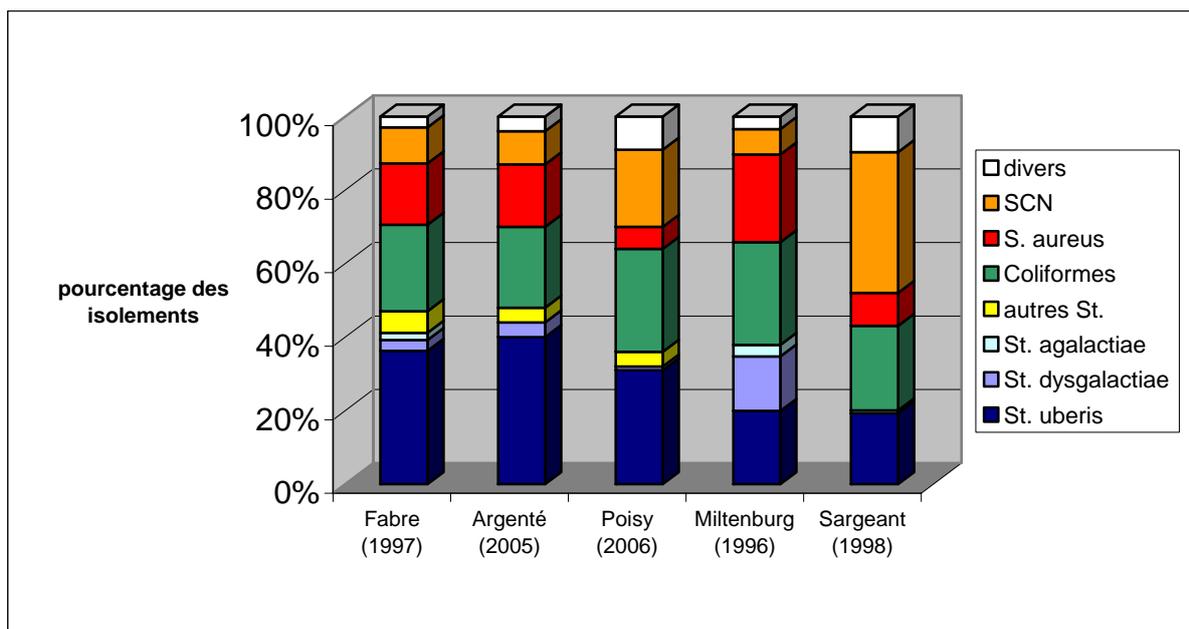
#### 2.4.1.4. Comparaison avec d'autres études françaises et étrangères

Tableau 15: Comparaison des isolements bactériens avec des études françaises et étrangères.

germe	Fabre (1997)	Argenté (2005)	Poisly (2006)	Miltenburg (1996)	Sargeant (1998)
<b><i>Str. uberis</i></b>	37%	40%	31%	20%	19%
<b><i>Str. dysgalactiae</i></b>	3%	4%	1%	15%	
<b><i>Str. agalactiae</i></b>	2%	0%	0%	3%	1%
<b>autres Streptocoques</b>	6%	4%	4%		
<b>Coliformes</b>	24%	22%	28%	28%	23%
<b><i>S. aureus</i></b>	17%	17%	6%	24%	9%
<b>SCN</b>	10%	9%	21%	7%	39%
<b>divers</b>	3%	4%	9%	3%	10%

Au niveau national trois groupes de germes dominent les isolements: *S. aureus*, *Str. uberis* et les coliformes (figure 16 à gauche). Le germe le plus souvent isolé est *Str. uberis* suivi des Coliformes puis de *S. aureus*. Au niveau national *Staphylococcus aureus* est encore bien présent malgré la généralisation depuis quinze ans des plans visant les mammites contagieuses. En fait il convient d'être prudent dans l'interprétation de ces résultats car il existe globalement deux profils d'élevages : des élevages dans la même situation que celle de Poisy actuellement avec peu de mammites à *S. aureus* et un problème latent de mammites d'environnement, avec en parallèle des élevages où la prévalence de *S. aureus* est encore forte (>20%), situation dans laquelle se trouvait Poisy avant 2000. *S. aureus* est un germe qui a pris de l'importance avec le développement de la traite mécanique au détriment de *Str. agalactiae* (MYLLYS and al 1994). La traite mécanique occasionne plus de lésions du trayon que la traite manuelle, or ce sont ces lésions qui servent de réservoir secondaire à *S. aureus*.

Au niveau national comme à Poisy les mammites à *Str. agalactiae* et *Str. dysgalactiae* sont devenues très rares.



**Figure 21: Répartition des isolements bactériens lors de différentes études françaises (à gauche) et étrangères (à droite) comparées à notre étude (au centre).**

La comparaison avec les études étrangères est plus délicate. L'enquête de Miltenburg en 1996 aux Pays-Bas met en évidence l'importance des mammites contagieuses à *S. aureus* et *Str. dysgalactiae*. Les résultats de Sargeant en Ontario tendent à se rapprocher des nôtres avec une part très importante d'isolement de staphylocoques à coagulase négative qui représentent presque 40 % des isolements de laits de mammites. Les SCN semblent avoir remplacé les *S. aureus*.

Cependant il faut souligner que les laboratoires où ont été réalisées ces études n'emploient pas forcément les mêmes méthodes d'isolement bactérien. Il faut donc rester prudents pour comparer les résultats de ces enquêtes.

Cette comparaison montre que nos résultats obtenus dans un seul élevage ne sont en aucun cas extrapolables à l'ensemble des élevages français ou étrangers. Il convient d'être très prudent, l'élevage de Poisy n'est pas représentatif de l'ensemble des élevages français. Nos résultats n'ont qu'un intérêt limité au centre d'élevage lui-même.

## 2.4.2. Données manquantes

Pendant les 30 mois de l'enquête, 117 cas de mammites ont été détectés et ont fait l'objet d'un examen bactériologique. Ces 117 cas ont été le départ des autres prélèvements.

Seuls 55 cas entrent dans le cadre du protocole d'origine, en fournissant deux bactériologies à J0 et à J15, ainsi qu'au minimum deux comptages cellulaires à J0 ainsi qu'à J15.

Cette perte de donnée handicape fortement la précision et la valeur de nos résultats.

De nombreux prélèvements n'ont pas été effectués pour diverses raisons : jour férié ou week-end, changement d'équipe de traite, résultat perdu, erreur de transcription du résultat, mammite grave sans deuxième prélèvement.... Le centre d'élevage de Poisy n'est pas une station expérimentale, il est toujours difficile d'y respecter un protocole à la lettre. Le nombre élevé d'intervenants dans l'élevage (6 formateurs, des dizaines de stagiaires par an) ne facilite pas le suivi d'un protocole.

Il aurait peut être été préférable de confier la réalisation des prélèvements et la collecte des données à une seule et même personne.

## 2.4.3. Valeur d'un test basé sur un seuil de comptage cellulaire

### 2.4.3.1. Détermination de la guérison bactériologique

Nous avons choisi pour notre test de déterminer la guérison bactériologique quinze jours après la détection de la mammite. D'autres auteurs qui ont également testé la validité d'un seuil de comptage cellulaire pour estimer la guérison bactériologique du quartier, ont déterminé la guérison du quartier quatre semaines après la détection de la mammite (PYÖRÄLÄ and PYÖRÄLÄ 1997). Nous avons choisi une période de 15 jours pour simplifier le protocole et l'adapter aux conditions du terrain afin d'éviter les données manquantes par un protocole trop long pour les intervenants. Mais ce délai de 15 jours semble juste suffisant pour estimer la guérison d'un quartier, on considère habituellement qu'il faut 15 jours à 3 semaines pour se prononcer sur la guérison bactériologique d'un quartier. Par contre ce délai de 15 jours permet aussi de minimiser le risque de nouvelles infections entre

les deux prélèvements. Ce délai nous a aussi semblé le plus pratique pour un éleveur voulant par exemple savoir si sa vache a besoin d'être traitée de nouveau.

Un autre point à souligner est le fait que l'examen bactériologique n'est pas parfait et ne permet pas de détecter toutes les infections mammaires. Comme nous l'avons vu dans la partie précédente, l'examen bactériologique donne un résultat stérile pour 25 à 30% des prélèvements. Par conséquent l'utilisation d'un tel examen pour évaluer la guérison d'un quartier aurait tendance à surestimer le taux de guérison notamment pour les infections à *S. aureus* (SEARS *et al* 1990). Il en résulte que l'utilisation d'un unique prélèvement bactériologique 15 jours après la mammite comme « gold standard » de notre test est discutable. Il aurait été préférable de répéter l'examen bactériologique plusieurs fois ou d'analyser plusieurs prélèvements du lait d'un même quartier pour en augmenter la sensibilité. Cependant on peut aussi augmenter la sensibilité de la bactériologie en augmentant le volume l'inoculum lors de l'ensemencement des cultures, c'est ce qui a été réalisé dans notre étude avec un inoculum de 50 µL.

L'absence d'un test de référence pour évaluer la guérison bactériologique des quartiers lors de mammite clinique ou subclinique constituera toujours le point faible de ce genre d'étude. On est alors obligé de considérer la bactériologie comme test de référence par défaut.

## 2.4.3.2. Facteurs de variations des comptages cellulaires de quartier (CCQ)

### 2.4.3.2.1. Stade de lactation

Il est maintenant connu de longue date que le stade de lactation affecte le comptage cellulaire du lait de quartier. Lors de lactations sans mammites cliniques ni mammites subcliniques, les CCQ sont élevés très brièvement en début de lactation (de l'ordre de 400 000 cell/mL) (DE HAAS *et al* 2002). Puis les CCQ diminuent assez rapidement vers un minimum aux alentours de 50 jours de lactation (moins de 100 000 cell/mL). Ensuite les CCQ augmentent légèrement tout au long de la lactation, pour se rapprocher de 100 000 cell/mL après 300 jours de lactation (DE HAAS *et al* 2002). Pour simplifier on peut dire que les comptages cellulaires varient selon une courbe inverse de la courbe de lactation (SERIEYS (3) 1985).

#### 2.4.3.2.1.1. Parité

On note aussi une différence entre les vaches pluripares et les primipares. Ces dernières ont globalement un profil de comptage cellulaire plus faible que les multipares (DE HAAS *et al* 2002). De plus, il semble que la différence tient essentiellement à ce que les vaches multipares voient leur CCQ augmenter significativement en fin de lactation, alors que pour les primipares les CCQ se maintiennent au même niveau en fin de lactation (SCHEPERS *et al* 1997).

#### 2.4.3.2.2. Infection

Le statut infectieux du quartier est le principal facteur de variation des comptages cellulaires du lait des quatre quartiers (SERIEYS (3) 1985) ou du quartier lui-même (SCHEPERS *et al* 1997, DE HAAS *et al* 2002), loin devant les variations dues au stade de lactation et au rang de lactation.

En 2002, DE HAAS *et al* ont comparé les effets des mammites cliniques dues à différents germes sur la courbe de comptages cellulaires de quartier. Ils distinguent 2 types de profils suivant le germe en cause.

Pour les mammites dues à *E. coli*, le taux cellulaire avant la mammite clinique est très faible généralement en dessous de 100 000 cell/mL, il augmente brusquement au moment de la mammite pour revenir ensuite plutôt rapidement à sa valeur basale. Ils observent le même profil pour les cas où aucun germe n'est isolé en culture (DE HAAS *et al* 2002)

Lors de mammite à *S. aureus*, le taux cellulaire est plutôt élevé avant la mammite clinique et il s'élève lentement dans les semaines précédant la mammite. Il s'élève rapidement lors de l'épisode clinique et demeure longtemps élevé après la mammite.

Pour ce qui est des mammites à Streptocoques on ne note pas de profil de CCQ qui soit lié significativement à ce type de mammites (DE HAAS *et al* 2004).

Enfin l'élévation du CCQ est plus élevée lors d'infection par un pathogène majeur que lors d'infection par un pathogène mineur (SCHEPERS *et al* 1997).

### 2.4.3.3. Comparaison des qualités de notre test avec d'autres études

Nous avons comparé les qualités de notre test avec d'autres études analysant la possibilité de prédire la guérison d'un quartier ou plus simplement le statut infectieux du quartier grâce à un test similaire au notre.

L'étude des époux PYÖRÄLÄ (PYÖRÄLÄ et PYÖRÄLÄ 1997) compare les performances de deux tests à prédire la guérison du quartier 4 semaines après la mammite, le premier test se base sur une valeur seuil de comptage cellulaire et le second sur l'activité de la N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase. Elle concerne 630 cas de mammites cliniques.

DJABRI évalue l'intérêt de prendre en compte le stade de lactation et la parité des vaches dans la réalisation d'un test basé sur le comptage cellulaire de quartier pour évaluer le statut bactériologique du quartier. Son étude concerne 27 315 prélèvements (DJABRI *et al* 2002).

MIDDLETON compare les performances du « California Mastitis Test » et du comptage cellulaire de quartier pour détecter les infections subcliniques dans un troupeau au taux cellulaire de tank élevé (MIDDLETON *et al* 2004).

L'étude de SARGEANT analyse la sensibilité et la spécificité du comptage cellulaire de quartier et du « California Mastitis Test » pour identifier les infections mammaires en début de lactation. Elle concerne 131 vaches de troupeaux expérimentaux d'Amérique du nord (SARGEANT *et al* 2001).

#### 2.4.3.3.1. Valeurs seuils utilisées

Les valeurs seuils de comptages choisies diffèrent suivant les auteurs. Mais des seuils fixés arbitrairement à 100 000 cell/mL sont fréquemment utilisés (SCHEPERS *et al* 1997, SARGEANT *et al* 2001).

Tous les auteurs s'accordent pour dire que quand on augmente la valeur seuil utilisée, la sensibilité diminue alors que la spécificité du test augmente. Ainsi SCHEPERS a testé différents seuils sur 22 467 prélèvements de lait de quartiers :

**Tableau 16: Sensibilité et spécificité pour trois valeurs seuils possibles (d'après SCHEPERS et al 1997)**

Valeur seuil	Sensibilité	Spécificité
100 000 cell/mL	83.2	80.5
200 000 cell/mL	74.5	89.6
400 000 cell/mL	60.8	95.0

Dans leur étude sur les infections intra-mammaires durant le post partum immédiat, SARGEANT trouve qu'un seuil de 100 000 cell/mL cinq jours après le vêlage permet une spécificité et une sensibilité maximum. Pour ce seuil il obtient une sensibilité de 57.4% et une spécificité de 72.3% quel que soit le germe en cause (SARGEANT *et al* 2001).

DJABRI a soumis ses données à l'analyse ROC afin de trouver les valeurs seuil qui majorent à la fois la spécificité et la sensibilité du test (cf. figure 22). Il obtient ainsi une valeur seuil de 265 000 cell/mL, avec une sensibilité de 71.2% et une spécificité de 75.8% (DJABRI *et al* 2002). Son analyse prend en compte toutes les étiologies de mammites. Quand il applique l'analyse ROC uniquement aux cas de mammites dues à des pathogènes majeurs, la valeur seuil retenue augmente, passant à 420 000 cell/mL, avec une sensibilité de 82.9% et une spécificité de 83.6%.

En pratique le choix de la valeur seuil à utiliser pour ce type de test dépend du but du test et des conséquences sanitaires et économiques pour le troupeau des inévitables faux négatifs et faux positifs. Par exemple dans les cas d'évaluation de la guérison bactériologique d'une mammite après traitement, on privilégiera un test avec une grande sensibilité, de façon à laisser passer le moins possible de vaches encore infectées mais avec un CCQ faible (faux négatif). On utilisera dans ce cas une valeur seuil plus faible, tout en sachant que l'on aura beaucoup plus de faux positifs. A l'inverse, si l'éleveur ne raisonne que d'un point de vue économique il aura peut être intérêt, compte tenu des délais d'attente lait après traitement, à utiliser un test peu sensible mais très spécifique de manière à ne traiter que les vaches effectivement infectées, donc choisir une valeur seuil plus élevée. Il apparaît ici la nécessité de faire une évaluation économique des conséquences des faux négatifs et faux positifs pour l'élevage. Cette approche économique sort du cadre de notre étude.

#### 2.4.3.3.2. Comportement du test en fonction du germe en cause

Comme nous l'avons-nous même remarqué dans notre étude, l'efficacité du test varie beaucoup selon le germe en cause dans la mammite. Les tests de ce type fonctionnent bien pour les pathogènes majeurs, plus particulièrement *S. aureus* (PYÖRÄLÄ et PYÖRÄLÄ 1997).

**Tableau 17: Qualités d'un test basé sur le CCQ suivant le germe responsable de la mammite (d'après PYÖRÄLÄ et PYÖRÄLÄ 1997)**

Germe	seuil	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
<i>S. aureus</i>	500 000	94	59
	1 000 000	87	83
SCN	500 000	68	68
Streptocoques	500 000	90	48
	1 000 000	74	65
Coliformes	500 000	88	34
	1 000 000	88	51

Il ressort des travaux de PYÖRÄLÄ que le test manque de sensibilité pour les mammites dues à des pathogènes mineurs comme les SCN, et manque de spécificité pour les mammites dues aux Entérobactéries.

D'autres auteurs ont soumis le test à l'analyse ROC (cf. figures 22 et 23). Ils concluent tous à des performances du test meilleures lors de mammites dues à des pathogènes majeurs (PYÖRÄLÄ et PYÖRÄLÄ 1997, DJABRI *et al* 2002).

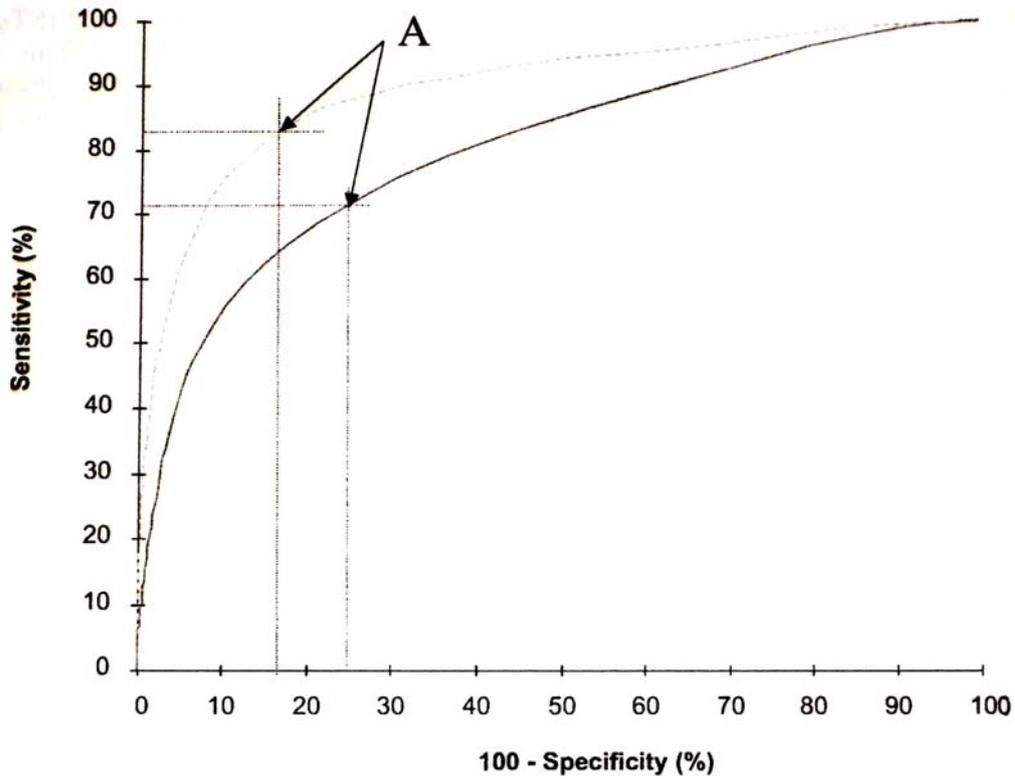


Figure 22: Courbe ROC du test de détection des infections mammaires, dues à des pathogènes majeurs (en pointillés) ou à tous les pathogènes (trait continu) (d'après DJABRI *et al* 2002).

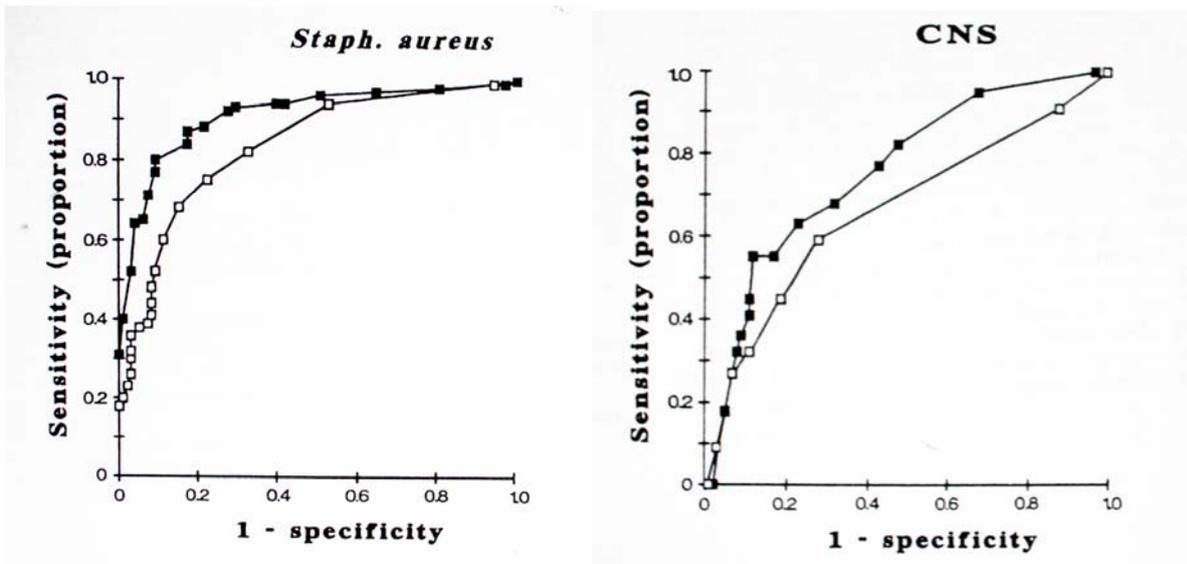


Figure 23: Courbes ROC du CCQ 4 semaines après traitement de mammites clinique dues à *Staphylococcus aureus* et à des SCN (carré noirs, les carrés blancs tracent la courbe ROC de l'activité de la N-acétylglucosaminidase) (d'après PYÖRÄLÄ 1997).

Notre étude, en accord avec les données disponibles dans la bibliographie, montre que de tels tests basés sur un seuil de CCQ ont des performances très inégales suivant les troupeaux sur lesquels ils sont utilisés. Il est très difficile de fixer une valeur seuil extrapolable à d'autres troupeaux. Par exemple pour un même seuil à 100 000 cell/mL, la sensibilité va de 57.4% à 83.2% et la spécificité de 72.3% à 80.5% suivant les études (SCHEPERS *et al* 1997, SARGEANT *et al* 2001, DJABRI *et al* 2002). Une des explications possibles tient au comportement du test en fonction du germe à l'origine de la mammite. En effet les pathogènes majeurs en induisant une élévation du CCQ plus forte, favorisent les chances du test de discriminer les quartiers infectés des quartiers sains. A l'opposé, les pathogènes mineurs en induisant une réponse cellulaire faible, diminuent les capacités du test à discriminer les quartiers infectés des quartiers sains.

On peut aussi expliquer ces différences par l'état de santé global des quartiers du troupeau. Dans un troupeau où le nombre d'infections sub-cliniques est important, le taux cellulaire moyen des quartiers est déjà élevé à la base et le test est moins efficace.

Toutes les études sur le sujet s'accordent pour dire que de tels tests fonctionnent cependant très bien dans le cas de mammites dues à *S. aureus*.

# Conclusion

Notre étude montre qu'au centre d'élevage de Poisy, la majorité des mammites sont dorénavant de type environnemental. *Str. uberis* représente 31% des cas de mammite, *E. coli* 23%, les staphylocoques à coagulase négative 21%. Par rapport aux précédentes enquêtes *S. aureus* ne représente plus que 6% des mammites cliniques.

Pour ce qui est du suivi des comptages cellulaires, nous avons évalué la capacité d'un seuil de comptage cellulaire de quartier à évaluer la guérison bactériologique du quartier 15 jours après la mammite. La méthode de référence utilisée est un examen bactériologique classique du lait.

Nos résultats en accord avec la bibliographie, montrent qu'un tel test appliqué à toute sorte de mammites, sans distinctions étiologiques, a des performances très moyennes. Dans notre cas portant sur 112 mammites, pour un seuil fixé à 100 000 cell/mL la sensibilité est de 85%, la spécificité de 63% et la précision de 69%. On explique ces performances moyennes par la variation des performances du test en fonction du germe en cause dans la mammite. Ainsi pour les pathogènes majeurs comme *S. aureus*, les performances du test sont convenables (Seuil à 100 000 cell/mL : Se 90%, Sp 69%, précision 78%), alors que les pathogènes majeurs comme les SCN diminuent les qualités du test en induisant une réponse inflammatoire moins importante. De plus il semble, en accord avec la bibliographie, que le choix de la valeur seuil optimisant à la fois la sensibilité et la spécificité diffère suivant le germe. La valeur seuil retenue à Poisy est pour toutes ces raisons difficilement extrapolable à d'autres élevages.

Cependant au Centre d'Elevage de Poisy, notre test a toujours une valeur prédictive négative élevée (> 80%) quelque soit le germe en cause, ce qui permet d'accorder une bonne

confiance à un résultat déclarant le quartier guéri. Cette qualité qui dépend du contexte dans lequel est employé le test n'est en aucun cas extrapolable à d'autres élevages.

Il pourrait être intéressant d'évaluer de tels tests au sein de plusieurs troupeaux, ayant des caractères épidémiologiques différents.

**Le Professeur responsable  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon**

  
Pierre GUERIN

**Vu : Le Directeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon**



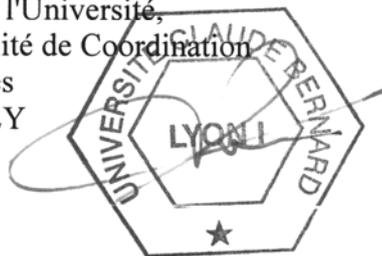
**Le Président de la thèse  
Professeur M. BERLAND**



**Vu et permis d'imprimer**

**Lyon, le 09 OCT. 2008**

Pour Le Président de l'Université,  
Le Président du Comité de Coordination  
Des Etudes Médicales  
Professeur F.N GILLY



# Bibliographie

- ARGENTE G., LARDOUX S., LE BERRE K., LABBE J-F. (2005)  
Valeur de l'observation clinique de symptômes simples de mammite pour prédire les bactéries en cause.  
Bull. Group. Tech. Vét., 32, 39-46
- BARONE R. (1978)  
Mamelles.  
In : Anatomie Comparée des Mammifères Domestiques, tome 3 : splanchnologie, fascicule 2, Vigot, Paris, 449-501
- BERTHELOT X., LEBRET P., PETIT C. (1987)  
Les infections mammaires de la vache laitière.  
Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 192p.
- BES M., GUERIN-FAUBLEE V., MEUGNIER H., ETIENNE J., FRENEY J. (2000)  
Improvement of the identification of staphylococci isolated from bovine mammary infection using molecular methods.  
Vet. Microbiol., 71, 287-294
- BILLON P., MENARD J-L., BERNY F., VAUDIN V. (2001)  
La détection des mammites par mesure de la conductivité électrique du lait.  
Bull. Group. Tech. Vét., 12, 35-39
- BRADLEY A. J., GREEN M. J. (2004)  
The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention.  
Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract., 20, 547-568
- DE HAAS Y., BARKEMA H.W., VEERKAMP R.F. (2002)  
The effect of pathogen-specific clinical mastitis on the lactation curve for somatic cell count.  
J. Dairy Sci., 85, 1314-1323
- DE HAAS Y., VEERKAMP R. F., BARKEMA H. V., GROHN Y. T., SCHUKKEN Y. H. (2004)  
Associations between pathogen-specific cases of clinical mastitis and somatic cell count patterns.  
J. Dairy Sci., 87, 95-105
- DJABRI B., BAREILLE N., POUTREL B., BEAUDEAU F., DUCCELLIEZ M., SEEGER H. (2002)  
Accuracy of the detection of intramammary infection using quarter somatic cell count when taking parity and stage of lactation of the dairy cow into account.  
Anim. Res., 51, 135-148

EBERHART R.J., NATZKE R.P., NEWBOULD F.H.J. (1979)  
Coliform Mastitis. A review.  
J. Dairy Sci., 62, 1-22

FABRE J-M., MORVAN H., LEBREUX B., HOUFFSCHMITT PH., BERTHELOT X.  
(1997)  
Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France, partie  
1 : mammites cliniques  
Bull. Group. Tech. Vét., 3-B, 17-23

FALLET D. (1999)  
Quelques aspects de l'épidémiologie des mammites cliniques de la vache laitière. Etude  
bibliographique et résultats d'enquête.  
Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 143p.

FLACHE, H. (2002)  
Cinétique des comptages cellulaires de quartiers après mammites cliniques chez la vache  
laitière.  
Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 72p.

FAROULT B., LE PAGE P. (2006)  
Quels prélèvements de lait pour le diagnostic bactériologique des mammites bovines ?  
Bull. Group. Tech. Vét., 33, 24-30

GUERIN P. (1998)  
Mammites à Staphylocoques chez la vache : aspects épidémiologiques.  
In : Staphylocoques et santé publique, Neuvièmes rencontres GTV Rhône-Alpes, Ecole  
nationale vétérinaire de Lyon, 18 juin 1998, 21 p.

KREMER W. D., NOORDHUIZEN-STASSEN E. N., LOHUIS J. (1990)  
Host defence and bovine coliform mastitis. Host defence mechanisms and characteristics of  
coliform bacterian mastitis in bovine: a review.  
Veterinary Quartely, 12, 103-113

LEMARCHAND F., AMEDEO J., SELLAL E., POUTREL B. (2005)  
Recherche de Mycoplasma bovis par technique PCR sur lait de tank en Pays de Loire  
Bull. Group. Tech. Vét., 32, 121-125

LE PAGE P., (1999)  
Les cellules du lait et la mamelle  
In : Cellules somatiques du lait, Journées nationales Groupements techniques Vétérinaires  
INRA, Nantes, 26-27-28 mai, 7-13

LERAY O. (1999)  
Méthodes de comptage des cellules du lait et contrôle qualité  
In : Cellules somatiques du lait, Journées nationales Groupements techniques Vétérinaires  
INRA, Nantes, 26-27-28 mai, 85-90

MIALOT J-P. (1983)

Technique de prélèvement de lait pour examen bactériologique.  
Rec. Méd. Vét., 159, (11), 1057-1058

MIDDLETON J.R., HARDIN D., STEEVENS B., RANDLE R., TYLER J.W. (2004)

Use of somatic cell count and California mastitis test results from individual quarter milk samples to detect subclinical intramammary infection in dairy cattle from a herd with a high bulk tank somatic cell count.

J. Am. Vet. Med. Assoc., 224, (3), 419-423

MILTENBURG J.D., DE LANGE D., CRAUWELS A.P.P., BONGERS J.H., TIELEN M.J.M, SCHUKKEN Y.H., ELBERS A.R.W (1996)

Incidence of clinical mastitis in a random sample of dairy herds in the southern Netherlands  
Vet. Rec., 139, 204-207.

MYLLYS V., HONKANEN-BUZALSKI T., HUOVINEN P., SANDHOLM M., NURMI E. (1994)

Association of changes in the bacterial ecology of bovine mastitis with changes in the use of milking machine and antibacterial drugs

Acta vet. scand., 35, (4), 363-369

NATIONAL MASTITIS COUNCIL (1985)

Mammites: rôle de la machine à traire

D'après « current concepts of bovine mastitis », National Mastitis Council, (1978), USA

Rec. Méd. Vét., 161, (6-7), 513-518

POUTREL B. (1985)

Généralités sur les mammites de la vache laitière, processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle

Rec. Méd. Vét., 161, (6-7), 497-511

PYÖRÄLÄ S., PYÖRÄLÄ E. (1997)

Accuracy of methods using somatic cell count and N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase activity in milk to assess the bacteriological cure of bovine clinical mastitis.

J. Dairy Sci., 80, 2820-2825

QUINN P., CARTER M., MARKEY B. et CARTER G. (1994)

Mastitis.

In : Clinical veterinary microbiology, Mosby Year Book, London, 327-345

SARGEANT J.M., MORGAN-SCOTT H., LESLIE K.E., IRELAND M.J., BASHIRI A. (1998)

Clinical mastitis in dairy cattle in Ontario: Frequency of occurrence and bacteriological isolates.

Can. Vet. J., 39, 33-38

SARGEANT J.M., LESLIE K.E., SHIRLEY J.E., PULKRABEK B.J., LIM G.H. (2001)  
Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation.  
J. Dairy Sci., 84, 2018-2024

SCHEPERS A. J., LAM T.J.G.M., SCHUKKEN Y.H., WILMINK J.B.M., HANEKAMP W.J.A. (1997)  
Estimation of variance components for Somatic Cell Counts to determine thresholds for uninfected quarters  
J. Dairy Sci., 80, 1833-1840

SCHUKKEN Y.H., GROMMERS F.H., VAN DER GEER D., BRAND A. (1989)  
Effect of freezing on bacteriological culturing of mastitis milk samples.  
J. Dairy Sci., 79, 1906-1908

SEARS P.M., SMITH B.S., ENGLISH P.B., HEBER P.S., GONZALES R.N. (1990)  
Shedding pattern of *Staphylococcus aureus* from bovine intramammary infections.  
J. Dairy Sci., 73, 2785-2789.

SERIEYS F. (1985) (1)  
Utilisation de la numération des cellules du lait de vache dans la lutte contre les mammites.  
Thèse de Docteur Ingénieur en Sciences agronomiques. Ecole Nationale Supérieure de Montpellier, octobre 1985, 240p.

SERIEYS F. (1985) (2)  
Interprétation des concentrations cellulaires de lait individuel de vache pour le diagnostic de l'état d'infection mammaire.  
Ann. Rech. Vét., 16, (3), 263-269

SERIEYS F. (1985) (3)  
Concentration cellulaire du lait individuel de vache : influence de l'état d'infection mammaire, du numéro, du stade de lactation et de la production laitière.  
Ann. Rech. Vét., 16, (3), 255-261

SERIEYS F., GICQUEL-BRUNEAU M. (2005)  
Les souches de *Staphylococcus aureus* responsables de mammites subcliniques sont-elles homogènes intra-troupeau pour la production de  $\beta$ -lactamase et la résistance à la pénicilline ?  
In : Journées Nationales des Groupements Techniques Vétérinaires, Nantes, 25-26-27 mai, 687-690



**NOIRETERRE Philippe**

**Suivis de comptages cellulaires et d'examens bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière. Etude expérimentale au Centre d'Elevage Lucien Bizet de Poisy.**

Thèse Vétérinaire : Lyon , le 7 novembre 2006

**RESUME** : Après de brefs rappels bibliographiques, l'auteur analyse 117 cas de mammites cliniques survenus dans un troupeau laitier ayant fait l'objet d'un suivi bactériologique et de comptages cellulaires. La majorité des mammites sont de type environnemental (*Str. uberis* 31%, *E. coli* 23%, SCN 21% et *S. aureus* 6%). L'auteur évalue ensuite les performances d'un test basé sur un comptage cellulaire de quartier 15 jours après la mammite pour évaluer la guérison bactériologique du quartier. Les résultats en accord avec la bibliographie, montrent que le test a des performances très moyennes. Pour un seuil de comptage cellulaire à 100 000 cell/mL la sensibilité est de 85% la spécificité de 63% et la précision de 69%. Les performances du test sont meilleures lors de mammites dues à des pathogènes majeurs et moindres lors de mammites dues à des pathogènes mineurs.

**MOTS CLES** : mammite, vache laitière, comptage cellulaire, bactériologie.

**JURY :**

Président :	Monsieur le Professeur Michel BERLAND
1er Assesseur :	Monsieur le Professeur Pierre GUERIN
2ème Assesseur :	Madame le Professeur Véronique GUERIN
Membre invité :	Docteur Thierry HETREAU

**DATE DE SOUTENANCE** : Mardi 7 novembre 2006

**ADRESSE DE L'AUTEUR :**

Barnichon  
03300 LA CHAPELLE