

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU



FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Science Agronomique

Spécialité : Transformation et conservation des produits agricoles

Thème :

Evaluation des risques microbiologiques du lait cru issu des vaches atteintes d'une mammites sub-clinique récolté des fermes des Ouacifs

Travail réalisé par : M^{elle} Fahem Selwa
M^{elle} Ouidir Djouher

Membre de Jury :

Promoteur :	M ^r Ferdji Abdelkrim	Maitre assistant à UMMTO
Président :	M ^r Amrouche Tahar	Maitre de conférences à UMMTO
Examineurs :	M ^r Alili Naceur	Maitre assistant à UMMTO
	M ^{elle} Lami Sara	Maitre assistante à UMMTO

Promotion : 2015/2016

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant, pour nous avoir donné le courage, la patience, la volonté et le pouvoir de raisonner afin de réaliser ce modeste travail et qui nous a éclairé les chemins par la lumière de son immense savoir.



Nos profonds remerciements s'adressent en premier lieu à notre promoteur M^r FERDJI ABDELKRIM Maître assistant au département d'agronomie, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance et sa patience tout au long de la réalisation de ce mémoire. Pour tout cela, nous tenons à vous exprimer toute notre gratitude.



Avec tout nos respects nous tenons à remercier M^r AMROUCHE TAHAR maître de conférence A au département d'agronomie, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, d'avoir accepté de présider le jury.



Sincères remerciements vont à M^r ALILI NACEUR maître assistant au département d'agronomie, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou d'avoir accepté d'examiner ce travail, pour son aide et ses précieux conseils.



Nos remerciement vont également à M^{elle} LAMI SARA maître assistante au département d'agronomie, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou d'avoir accepté d'examiner ce travail.



Nous tenons à remercier chaleureusement Mr BELBAYE HAMID pour avoir accepté de réaliser notre stage au sein de son laboratoire « REGILACQ ».



Nous tenons à exprimé nos remerciement au personnel du laboratoire « OVOLABE. ».



Nos profonds remerciements s'adressent également à M^r BARIZ KARIM maître assistant au département de Biochimie-Microbiologie, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour son aide, ses conseils et sa gentillesse.



Enfin, nous tenons à remercier tous ceux ou celles qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de notre travail.

Encore merci

Dédicaces



Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents (MALIKA et BOUALEM), sans votre affection, vos conseils, vos sacrifices, vos encouragements, vos prières et vos efforts, que vous avez déployés durant toute ma vie, ce travail n'aurait jamais pu être réalisé. Je vous présente ma pleine gratitude et mon profond respect, je vous aime énormément.



Mon fiancé BILAL que je remercie infiniment pour avoir été toujours présent, et pour ses conseils innombrables.



Mes très chères sœurs : SAIDA, MERIEM, FAIZA ET KHADIJA ainsi qu'à mon très cher frère AMAR, qui m'ont toujours soutenus et encouragés.



Mes tantes que j'adore énormément : OUARDIA, NACERA, ZAHIA, FADHILA, HAFIDA, YAMINA, CHERIFA et FATIHA.



Mon cher oncle MOURAD et sa très chère femme FAZIA que je remercie énormément.



Toute la famille OUIDIR, AMROUNE et NEBILI.



Mes très chères amies : CELIA que j'adore énormément, LYNDA, AMEL, NAWEL, SOUAD et NASSIMA.



OUIDIR DJOUHER

Dédicaces



Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents à qui je dois tous et à qui je ne rendais jamais assez.



Ma très chère sœur et mes frères



Mes chers neveux et nièces



Mes amis (e) et toute la promotion TCPA



FAHEM SELWA

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Résumé en français.....	
Résumé en anglais.....	
Liste des tableaux.....	
Liste des figures.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction générale.....	1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur le lait de vache

I.1.Généralité.....	3
I.2.Définition.....	3
I.2.1.Sécrétion du lait.....	3
I.3.Composition du lait.....	4
I.4.Composition cellulaire.....	7
I.4.1.Cellules somatiques.....	7
I.4.2.Les microorganismes.....	8
I.4.2.1.La flore originelle.....	8
I.4.2.2.La flore de contamination.....	8
a) la flore d'altération.....	9
b) la flore pathogène.....	9

Chapitre II : les mammites bovines

II.1.Définition d'une mammite.....	10
II.2.Les aspect des mammites.....	10
II.3.Etiologie des mammites et leur réservoir.....	11
II.4.Evolution des mammites.....	14
II.5.Facteurs influençant les infections de la mamelle.....	17

Chapitre III : Conséquences des mammites sur la filière lait

III.1. Conséquences hygiéniques.....	21
III.2. Conséquences pour la production laitière.....	21
III.3. Changement de composition du lait du aux mammites.....	22
III.4. Conséquence pour la mise en valeur du lait.....	24
III.5. Quelques mesures pour prévenir des mammites.....	24

PARTIE EXPERIMENTALE

I-Matériels et méthodes

1. Objectif de l'étude.....	27
2. Période d'étude.....	27
3. Présentation de la région d'étude.....	27
4. Présentation des laboratoires d'analyses.....	27
5. Prélèvement d'échantillon	27
5.1. Test CMT (California Mastitis test).....	28
5.2. Technique de prélèvement	29
5.3. Conservation des prélèvements.....	29
6. Le comptage des cellules somatiques	29
7. Analyses microbiologiques.....	30
7.1. Préparation des dilutions	31
7.2. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FMAT).....	31
7.3. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux	33
7.4. Recherche et dénombrement de staphylocoque aureus.....	34
8. Questionnaire d'enquête	39
9. Analyse statistique.....	39

II. Résultats et discussion :

1. Evaluation des conditions d'élevage et des conditions de traite au niveau des fermes	40
2. Appréciation de l'état sanitaire mammaire par le test CMT.....	40
2.1. Résultat du test CMT selon la position des quartiers.....	41
2.2. Le pourcentage des quartiers infectés	42
3. La prévalence des mammites sub-cliniques chez les vaches	43
4. Résultats du comptage cellulaire.....	45
5. Résultats de dénombrement de la Flore Mésophile Totale.....	46
6. Résultats de dénombrement des coliformes Fécaux.....	48
7. Résultats de dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	49
8. Fréquence des germes isolés en fonction de leur réservoir.....	51
9. Analyse de la Variance des nombres de germes.....	52
10-Identification des groupes homogènes parmi les 3 flores	53
11-Identification du type de germe le plus fréquent.....	53
12- Relation entre le nombre de vaches total et le nombre de vaches atteintes.....	53
13. Relation entre le nombre de vaches atteintes et le nombre total de germes	53
Conclusion.....	54
Recommandations et Perspectives.....	
Références bibliographiques.....	
Annexes.....	

Résumé :

A l'état sain, la sécrétion lactée produite dans la mamelle est stérile. La présence de germes dans le lait est généralement signe d'une infection de la glande. L'objectif de ce travail est d'étudier la prévalence des mammites sub-cliniques dans les exploitations bovines laitières dans la région des Ouacifs à la wilaya de Tizi-Ouzou. A partir de la réalisation du Californian Mastitis Test (CMT) sur le lait de quartier et du comptage des cellules somatiques dans le lait de mélange qui représentent des méthodes conventionnelles dans tous les réseaux du dépistage de mammites sub-cliniques dans le monde. Une analyse bactériologique a été réalisée sur tous les échantillons de lait positifs, afin de confirmer la présence d'une infection, et identifier le(s) pathogène(s) qui sont responsables de cette mammites sub-clinique.

Le test CMT a permis de révéler un taux de (37,83 %) de mammite sub-clinique dans les troupeaux laitiers inclus dans l'étude pour des scores CMT 3. Les résultats du comptage cellulaire du lait de mélange ont montré un taux cellulaire de 15.10^5 cellules par millilitre de lait, soit l'équivalent d'un score CMT 3 révélateur d'une infection mammaire sub-clinique. L'analyse bactériologique a montré que la totalité des échantillons de lait positifs contenaient des bactéries. Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale permet de souligner la forte contamination des échantillons analysés avec une moyenne de $14.10^6 \pm 3,22.10^6$ ufc/ml. Les échantillons de laits sont également contaminés par les coliformes fécaux avec une moyenne de $95.10^3 \pm 137.10^3$ ufc/ml . La présence de germes pathogènes est essentiellement attribuée aux *Staphylocoques aureus* avec une moyenne de $29,5.10^2 \pm 47,55.10^2$ ufc/ml . Au vu des normes algériennes (JORA, 1998), la qualité hygiénique de tous les échantillons de laits analysés, est mauvaise. Les laits sont fortement pollués. Ces résultats montrent une bonne corrélation entre le CMT et la bactériologie. Le CMT constitue donc un test d'intérêt pour le diagnostic des mammites sub-cliniques au niveau des élevages bovins laitiers.

La situation sanitaire des mamelles mérite un suivi rigoureux des conditions d'hygiène des troupeaux bovins et surtout des chantiers et des équipements de traite, afin de réduire autant que possible la prolifération des mammites sub-cliniques, et par conséquent, les pertes laitières engendrées.

Mots clés : Vaches laitières - lait - mammite sub-clinique - Test CMT- Cellules somatiques- qualité - hygiène.

Abstract :

A healthy state, milk secretion produced in the udder cows is sterile. The presence of germs in the milk is usually a sign of infection of the gland. The objective of this work is to study the prevalence of subclinical mastitis in dairy cattle farms in the region of Ouacifs in Tizi-Ouzou. From the realization of the Californian Mastitis Test (CMT) on quarter's milk and the somatic cell count in milk mixture representing conventional methods in all networks screening subclinical mastitis in the world. Bacteriological analysis was performed on all positive milk samples to confirm the presence of infection, and identify pathogens that are responsible for this sub-clinical mastitis.

The CMT test has revealed a rate of (37.83%) of sub-clinical mastitis in dairy herds enrolled in the study for CMT scores 3. The results of the cell count of the milk mixture showed a cell rate of 15 000 000 cell /ml of milk, the equivalent of a CMT score 3 indicative of subclinical breast infection. The bacteriological analysis showed that all positive milk samples contained bacteria. Enumeration of total aerobic mesophilic flora serves to underline the high contamination of the samples analyzed with an average of $14.10^6 \pm 3,22.10^6$ CFU / ml. Milk samples are also contaminated by fecal coliforms with an average of $95 10^3 \pm 137 .10^3$ CFU / ml. The presence of pathogens is mainly attributed to *Staphylococcus aureus* with an average of $29,5.10^2 \pm 47,55.10^2$ CFU / ml. Given the Algerian standards (JORA, 1998), the hygienic quality of all samples analyzed milk is bad. Milks are heavily polluted. These results show a good correlation between the CMT and bacteriology. The CMT is therefore a test of interest for the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cattle farms.

The health status of udder deserves close monitoring of hygiene conditions of cattle herds and especially workings and milking equipment, to minimize the proliferation of sub-clinical mastitis, and therefore dairy losses caused.

Keywords: Dairy cows -Milk - subclinical mastitis - CMT Test –Somatic cell- quality- hygiene.

Liste des figures :

Figure 01 : Les différents tissus de la mamelle de la vache.....	04
Figure 02 : Coupe longitudinale d'un trayon.....	16
Figure 03 : Les trois possibilités d'évolution lors de l'apparition d'une mammite.....	17
Figure 04 : Préparation des dilutions décimales à partir de la suspension mère (lait).....	31
Figure 05 : Le diagramme de dénombrement des FMAT.....	32
Figure 06 : Dénombrement des Coliformes fécaux.....	34
Figure 07 : Recherche et dénombrement des staphylococcus.....	36
Figure 08 : réalisation de test de la catalase.....	37
Figure 09 : Test de la coagulase.....	37
Figure 10 : Résultat des pourcentages des quartiers infectés selon la position.....	41
Figure 11 : Résultat des pourcentages des quartiers testés.....	42
Figure 12 : Résultat négatif du Test CMT (photo personnel 2016).....	44
Figure 13 : Résultat positif du Test CMT (photo personnel 2016).....	44
Figure 14 : Résultats de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FAMT) dans les laits crus à travers les fermes laitières (ufc/ml).....	46
Figure 15 : Résultats de dénombrement des Coliformes Fécaux dans les laits crus à travers les fermes laitières.....	48
Figure 16 : Résultats des dénombrements des <i>Staphylococcus aureus</i> dans des laits crus à travers les fermes laitières.....	49
Figure 17 : <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Chapman (photo personnel 2016).....	50
Figure 18 : Fréquence des germes isolés en fonction de leur réservoir.....	51

Liste des tableaux

Tableau 01 : composition minérale du lait de vache.....	05
Tableau 02 : Composition moyenne du lait de vache.....	06
Tableau 03 : principales espèces de bactéries pathogènes pour la mamelle et leurs réservoirs...	14
Tableau 04 : Changement de composition du lait causé par les mammites.....	24
Tableau 05 : Interprétation des résultats CMT.....	29
Tableau 06 : Résultats du CMT selon la position des quartiers.....	41
Tableau 07 : Prévalence des mammites sub-cliniques chez les vaches laitières.....	43
Tableau 08 : les résultats des écarts réduits.....	44
Tableau 09 : Concentration cellulaire par ferme.....	45
Tableau 10 : Analyse de la Variance des nombres de germes.....	52

Liste des abréviations

- **ANOVA** : analyse of variance.
- **B.H.I.B** : Brain Heart Infusion (Bouillon)
- **CCS** : comptage des cellules somatiques
- **CF** : Coliformes Fécaux
- **CMT** : California Mastitis Test.
- **FAO** : organisme des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
- **FMAT** : Flore Mésophile Aérobie Totale.
- **J.O.R.A** : Journal Officiel De La Republication Algérienne.
- **MADR** : Ministère De L'agriculture Et De Développement Rural
- **PCA** : Gélose (Plate Count Agar)
- **CS** : cellules somatiques
- **UFC** : Unité Formant Colonies
- **VRBL** : Milieu Lactosée Biliée Au Cristal Violet Et Au Rouge Neutre.
- **CCSI** : Comptage individuel des cellules somatiques.

Introduction
Générale

Introduction générale:

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par an (KIRAT, 2007). Le lait occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale et c'est l'acteur clé de l'industrie agro-alimentaire.

Cet aliment hautement nutritif par sa richesse en glucides, protéines, lipides, vitamines et sels minéraux, peut néanmoins représenter un danger pour le consommateur, spécialement quand il véhicule des agents zoonotiques et des résidus de substances antimicrobiennes. La qualité du lait peut être affectée par de nombreux facteurs tels que les contaminations au cours et après la traite et la présence de mammites.

La mammite est un état d'inflammation de la glande mammaire résultant de l'action de micro-organismes pathogènes très variés. Les mammites constituent une pathologie majeure de l'élevage laitier aussi bien par leur fréquence que par les pertes qu'elles entraînent. Elles occasionnent des pertes économiques considérables, en raison de la chute de la production laitière, des pertes dans l'industrie laitière ainsi que les coûts thérapeutiques et prophylactiques. La santé humaine peut se trouver compromise par la présence d'agents pathogènes et ou des toxines dans le lait ainsi que les résidus d'antibiotiques résultant du traitement des mammites (POUTREL, 1986).

En Algérie, comme dans la plupart des pays, les mammites bovines constituent une pathologie dominante dans les élevages bovins laitiers. Mais il y'a un manque d'études approfondies, indispensables pour cerner les facteurs de risque associés à ces infections mammaires ainsi que la connaissance des germes responsables.

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude, qui est une évaluation des risques microbiologiques du lait cru issu des vaches atteintes d'une mammite sub-clinique. Elle a pour objectifs principaux de :

- Faire un dépistage pour mettre en évidence la prévalence des mammites sub-cliniques.
- Isoler les germes les plus incriminés dans cette infection sub-clinique.
- Etablir des recommandations visant à minimiser le taux des mammites sub-cliniques.

Pour réaliser notre étude, nous avons opté pour le plan suivant :

Une partie bibliographique : Elle présente des généralités sur le lait dans le premier chapitre. Les mammites bovines dans le deuxième chapitre. Et en troisième et dernier chapitre nous avons présenté les conséquences des mammites sur la filière lait.

Une partie expérimentale : Dans laquelle on a réalisé le test CMT (Californian Mastitis Test) sur le lait de quartier, un comptage de cellules somatiques dans le lait de mélange qui représentent des méthodes conventionnelles dans tous les réseaux du dépistage de mammites sub-cliniques dans le monde et enfin une analyse microbiologiques a été réalisée sur tous les échantillons de lait positifs, afin de confirmer la présence d'une infection, et identifier les pathogènes qui sont responsables de cette mammite sub-clinique.

Partie I :
Synthèse
Bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur
Le lait de vache

I.1.Généralité :

Le lait présente une excellente source de calcium, de phosphore et de riboflavine, il est relativement riche en thiamine et en vitamine A, Cependant, le lait est pauvre en fer, en acide ascorbique et en vitamine D, le lait et ses dérivées occupent une place importante dans le marché mondiale des produits alimentaires. En effet, en raison des besoins en apport calorique du corps humains, le lait est considéré comme un aliment important voire nécessaire de notre alimentation quotidienne. Cette denrée alimentaire joue un grand rôle dans l'équilibre du régime alimentaire des pays consommateurs puisqu'elle représente une source importante d'éléments minéraux, de glucides, de protéine et de lipides (OULD MOUSTAPHA, 2012)

I.2.Définition du lait :

Le lait a été défini en 1908, au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme étant : le produit intégral de la traite totale interrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée.il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (BOUDIER et LUQUET, 1981). Il doit être en outre collecté dans des bonnes conditions hygiéniques et présenter les garanties sanitaires (JEANTET *et al.* 2008).

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères pour la nutrition de jeune animal naissant (ABOUTATAYEB, 2009).

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant sa consommation (car il contient des germes pathogènes). Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24 heures (FREDOT, 2006).

I.2.1.La sécrétion du lait

Le lait est sécrété dans le pis de la vache, un organe hémisphérique divisé en deux moitiés (gauche et droite) par un pli. Chaque moitié est divisée en quartiers par un pli transversal peu profond. Chaque quartier possède un trayon avec sa propre glande mammaire, ce qui, théoriquement, permet d'obtenir quatre qualités différentes de la même vache.

Le pis est constitué d'un tissu glandulaire qui contient les cellules de production de lait. Il est recouvert d'un tissu musculaire qui assure la cohésion du corps du pis et le protège. Le tissu glandulaire contient un très grand nombre de minuscules vésicules appelées alvéoles.

Les cellules de production du lait proprement dit sont situées sur les parois internes des alvéoles (**Figure 1**). Les capillaires partant des alvéoles convergent dans des canaux lactifères de plus en plus grands qui conduisent à une cavité au-dessus du trayon. Cette cavité, appelée citerne du pis, peut contenir jusqu'à 30% du volume total du pis. (DOMINIQUE, 2010)

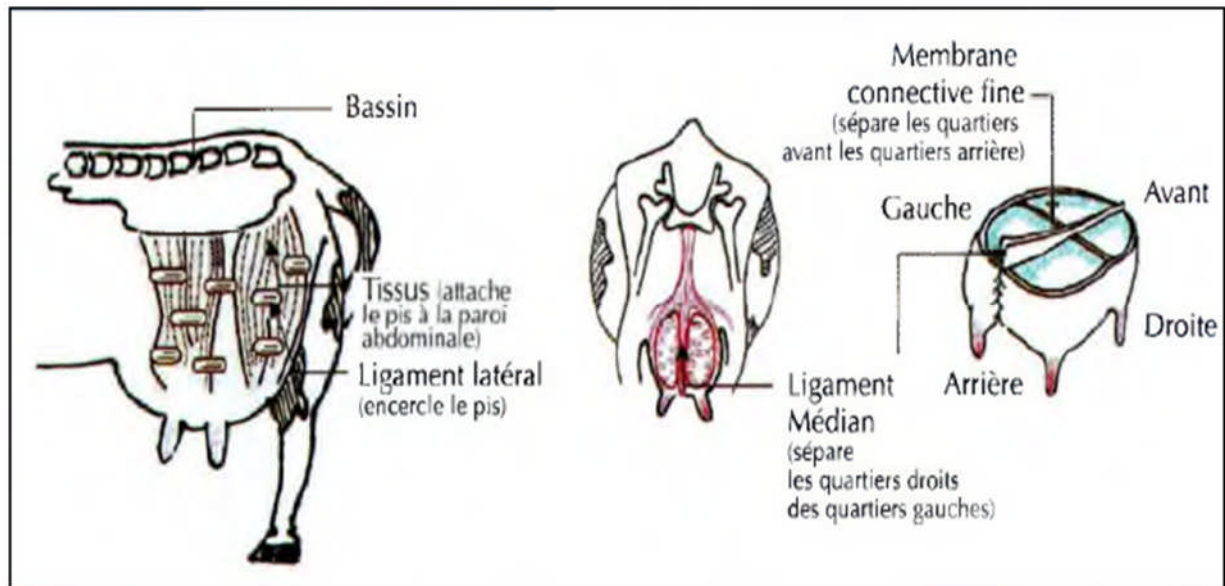


Figure 01 : Les différents tissus de la mamelle de la vache (DOMINING, 2010)

I.3.Composition du lait :

Le lait de vache est un lait caseineux. Sa composition est caractérisée par une grande complexité dans la nature et la forme de ses composants. Quatre composants sont dominants du point de vue quantitatif (l'eau, matière grasse, les protéines et le lactose); les composés mineurs sont représentés par les matières minérales, les enzymes, les vitamines, les gaz dissous), sa composition générale est représentée au (**tableau n°02**). Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : race, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite (ROUDAUT et LEFRANCQ, 2005).

1.3.1. Matière grasse :

La matière grasse ou taux butyreux est présentée dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10 μm . Elle est essentiellement constituée de 98.5% de triglycérides (ester d'acide gras et de glycérol), de 1% de phospholipides polaires et de 0.5% de substances liposolubles (cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, et K) (JEANTET *et al.* , 2008).

1.3.2- Matière non grasse :

Elle est constituée majoritairement d'eau (87% de la composition globale) dans laquelle sont dispersés ou solubilisés les constituants suivant (AMIOT *et al.*, 2002).

- **Glucides:** dans le lait de vache, les glucides sont représentés essentiellement par le lactose qui constitue 4.8 à 5% de la composition globale. Ce dernier joue un rôle important dans les produits laitiers au tant que substrat de fermentation pour les bactéries lactiques qui l'hydrolysent en glucose et galactose puis transforment ces hexoses en acides lactique (CHEPTEL et CHEPTEL., 1996).
- **Protéines :** constituent 3.2 à 3.5 % de la composition globale et sont réparties en deux fractions : les protéines majeures sous forme de suspensions colloïdales appelées caséines (représentent 80% des protéines totales) et les protéines mineures dissoutes dans le sérum appelées les protéines sériques (constituent 20% des protéines totales) représentées principalement par l' α -lactalbumine et la β -lactalbumine (JEANTET *et al.*, 2007).
- **Minéraux :** le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux minéraux sont ; calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate, chlorure et citrate pour les anions (**Tableau 01**) (GAUCHERON, 2004).

Tableau 01 : composition minérale du lait de vache (JEANTET *et al.*, 2007)

Eléments minéraux	Concentration (mg.kg ⁻¹)
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphate inorganique	1805-2185
Citrate	1323-2079
Sodium	391-644
Potassium	1212-1681
Chlorure	772-1207

- **Vitamines :** Ce sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique. On classe les vitamines en deux grandes catégories :

1-Les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupes B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait.

2-Les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) associées à la matière grasse (CHEPTEL J. ET CHEPTEL H., 1996).

- **Enzymes** : Ce sont des substances organiques de nature protidique, produite par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Plus de 60 enzymes ont été isolées du lait et dont l'activité a été déterminée. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes (POUGHEON, 2001).

Ces enzymes peuvent jouer un rôle très important en fonction de leurs propriétés :

1. Des lyses des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipase, protéase).
2. Des protéases originelles du lait ; la plasmine est le composant majoritaire (elle provient du sang et migre via la glande mammaire).
3. Des protéases d'origine microbienne (le genre *Pseudomonas* et tout particulièrement l'espèce *Pseudomonas fluorescens*, synthèse des protéases exocellulaire thermostables).

Il est également à souligner que dans les laits de mammites, le nombre de cellules somatique peut être considérablement accru, le niveau de protéolyse est nettement plus élevé que dans les laits normaux (MIRANDA et GRIPON, 1986).

Tableau 02 : Composition moyenne du lait de vache (ALAIS *et al*, 2008)

Constituants	Composition (g /l)	Etat physique des composants
Glucides (lactose)	49	Solution
Eau	905	Eau libre (solvant) plus eau liée (3.7%)
Lipide	35	Émulsions des globules gras
Protides	34	Suspension micellaire
Sels	9	Solution ou état colloïdale
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	Traces	-
Extrait sec total	127	-
Extrait sec non gras	92	-

I.4.Composition cellulaire :

La composition cellulaire du lait a pour origine les cellules sanguines, les cellules épithéliales desquamées de la glande des canaux excréteurs (lactifères) et les cellules bactériennes d'origine endogène ou exogène.

I.4.1. Cellules somatiques :

Le lait, même « normal », contient des cellules somatiques : le terme de cellules somatiques s'opposant à celui de cellules « étrangères » qui peuvent être présentes dans un lait contaminé telles que les bactéries (GHARBI, 2002).

Quatre types de cellules sont présents dans le lait : celles ayant une origine sanguine, les granulocytes neutrophiles, basophiles, éosinophiles et les lymphocytes. Ces cellules sont impliquées dans les défenses immunitaires de la mamelle. En outre, le lait contient également des cellules épithéliales provenant de la desquamation de l'épithélium glandulaire ou des canaux lactifères. (GHARBI, 2002).

Selon (BADINAND, 1994), les cellules somatiques ne présentent pas en elles-mêmes un pouvoir pathogène ou toxique mais elles sont le reflet d'un désordre dans la sécrétion lactée. Ainsi, la numération cellulaire du lait de tank est un élément précieux pour le paiement du lait à la qualité mais aussi, pour le diagnostic des mammites, particulièrement les sub-cliniques qui sont invisibles et donc impossible de détecter par l'éleveur. En effet, le comptage des cellules somatiques dans le lait est utilisé pour apprécier le statut de l'infection du pis des vaches laitières et par conséquent pour estimer les pertes de la production laitière liées aux mammites.

Cependant, de nombreux facteurs influencent le nombre de cellules dans le lait ; même si la principale cause de variation reste le statut infectieux de la mamelle.

Plusieurs facteurs sont à l'origine de la variation du taux cellulaires à savoir : l'âge ; le numéro et le stade de lactation ; le niveau de production laitière et enfin de la saison. (SERIEYS, 1995),

I.4.2.Les microorganismes :

Le lait, de sa part composition biochimique, est un aliment de choix. En effet, il contient des graisses, du lactose, des vitamines, des minéraux, des protéines et plus de 87% d'eau. Son pH est 6.7, ce qui le rend un milieu très propice au développement d'une très large gamme de micro-organismes essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores.

Ils sont de natures diverses : bactéries, levures et moisissures. Cette diversité dépend de l'environnement des conditions de production et de l'hygiène de la traite (GUIRAUD, 2003).

Les microorganismes du lait sont répartis en une flore indigène ou originelle et une flore de contamination. Cette dernière est subdivisée en deux sous classes : la flore d'altération et la flore pathogène (LAMONTAGNE *et al*, 2002 ; RAY, 2004).

I.4.2.1.Flore indigène ou originelle :

La flore indigène des produits laitiers se définit comme l'ensemble des organismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis (LAMONTAGNE *et al*, 2002).

Le lait prélevé à partir d'un animal sain dans de bonnes conditions contient peu de germes (moins de 10^3 germes/l). Il s'agit essentiellement de :

- Germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles.
- Germes pathogènes dangereux du point de vue sanitaire peuvent être présent lorsque le lait est issu d'un animal malade (*Streptocoque pyogène, staphylocoques*) qui sont des agents de mammites.
- Agents d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en absence d'anomalie du pis, généralement : *Salmonella, Brucella*, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes, Mycobacterium, Bacillus anthracis* et quelque virus (GUIRAUD, 2003).

I.4.2.2. Flore de contamination :

La flore de contamination est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait, de la collecte jusqu'à la consommation. Elle est représentée par des germes de contamination endogène et exogène. Ils peuvent entraîner deux effets néfastes : altérer le produit ou être pathogène pour le consommateur (VIGNOLA, 2002).

a)La flore d'altération :

Les microorganismes responsables d'altération sont issus du milieu et des conditions de production. En effet, la contamination du lait par ces bactéries est souvent due à une mauvaise hygiène de la traite (contamination de la mamelle par l'environnement ou par un matériel de traite mal entretenu) ou par une contamination externe par l'intermédiaire d'aliment ou d'une eau souillée. Leur développement dans le lait peut être à l'origine d'altération de la qualité du lait du

fait de la dégradation de certains éléments protéiques, lipidiques ou glucidiques, ou bien de la production de substances indésirables telles les mycotoxines (LAMONTAGNE et al, 2002)

Ces altérations se traduisent par des défauts de goût, d'odeur, d'aspect et de texture, il s'agit alors d'une altération de la qualité marchande du produit (BEUVIER ET FEUTRY, 2005).

b) Flore pathogène :

Contrairement aux microorganismes d'altération, les microorganismes pathogènes ne se développent pas facilement dans le lait.

La présence de telle flore dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'homme. Il s'agit de : *Salmonellasp* ; *Staphylococcus aureus* ; *Clostridium perfringens* ; *Clostridium botulinum* (LAMONTAGNE et al., 2002).

En se développant dans la mamelle, certains de ces germes, en particulier, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Echerichia coli* et *Streptocopccussp*, provoquent des mammites, ce qui induit par conséquence une contamination du lait (LAMONTAGNE et al., 2002).

Chapitre II :
Les mammites
Bovines

La mammite est une inflammation de la glande mammaire, physiologiquement, c'est une réaction de défense contre une agression locale d'origine surtout infectieuse. C'est la maladie la plus répandue, provoquant des pertes économiques importantes chez les vaches laitières dans le monde. (INSTITUT DE L'ELEVAGE, 1994)

II.1.Définition d'une mammite :

La mammite est un état d'inflammation de la glande mammaire résultant de l'action de micro-organismes pathogènes très variés. Ces derniers attaquent et endommagent les tissus sécrétoires qui réagissent très souvent contre l'agression par la mobilisation des leucocytes polynucléaires neutrophiles dans la région de l'infection (DOMINIQUE, 2010). Les mammites sont considérées comme le problème numéro un en photologie bovine entraîne, d'une part, la baisse de la production du lait et, d'autre part, la baisse de la qualité hygiénique et nutritive du lait et de ces produits dérivés (DOMINIQUE, 2010)

Classiquement, on distingue trois types de symptômes :

- Des symptômes généraux, c'est-à-dire des modifications plus au moins importantes de l'état général telles une perte de l'appétit, une absence de rumination ou de la fièvre.
- Des symptômes locaux, qui s'observent au niveau de la mamelle et se traduisent par des signes classiques de l'inflammation.
- Des symptômes fonctionnels traduisant l'atteinte de la fonction de sécrétion et se manifestant par des modifications de la quantité et de la qualité du lait.

II.2.Les aspects des mammites

Selon la sévérité de l'infection deux grandes formes de mammites sont observées.

a) Mammites sub-cliniques :

Selon (HANZEN *et al.*, 2010), Les mammites sub-cliniques sont pratiquement invisible et difficile à détecter. La vache apparaît en bonne santé ; le pis a une apparence normale et le lait ne présente aucune modification macroscopique. Le seul signe d'infection est la présence dans le lait d'un nombre élevé de micro-organismes provoquant la formation de leucocytes dans le sang.

Une mammite sub-clinique peut être la résultante de deux phénomènes :

- D'une infection ayant entraîné une mammite clinique lors de la contamination d'un quartier et que le traitement n'a pas réussi à éliminer totalement ;
- De la contamination d'un quartier par un agent infectieux peu agressif et qui n'a pas occasionné de signes cliniques mais qui s'est installé durablement dans la mamelle (HANZEN *et al.*, 2010).

b) Mammites cliniques :

Les mammites cliniques sont une inflammation très brutale de la mamelle, elles peuvent être aiguës ou subaiguës. La mamelle est alors extrêmement congestionnée, douloureuse, chaude et volumineuse. La sécrétion lactée est soit interrompue, soit très modifiée et présente alors un aspect séreux, aqueux ou hémorragique. Les mammites cliniques aiguës sont généralement dues à des entérobactéries, notamment *Escherichia coli*, et à *Streptococcus uberis*, présentes dans l'environnement (DOMINIQUE, 2010).

II.3.Étiologie des mammites et leur réservoir :

Il n'existe pas de troupeaux laitiers bovins totalement indemnes d'infection mammaire. Les espèces bactériennes impliquées dans les infections mammaires de la vache sont présentes sur et chez l'animal lui-même ou dans son environnement (DOMINIQUE, 2010). Par ailleurs, Les bactéries responsables de mammites sont toutes capables de se multiplier dans le lait qui est un milieu nutritif suffisamment riche pour assurer leur développement

On distingue deux types d'agents pathogènes responsables de mammite :

1. Agents pathogènes majeurs

Les germes pathogènes majeurs sont appelés ainsi majeurs du fait de leur importance tant économique qu'épidémiologique. Ils sont responsables aussi bien des mammites sub-cliniques que des mammites cliniques plus ou moins graves. Par la fréquence, la persistance ou la sévérité des infections qu'ils provoquent, trois espèces bactériennes ont une importance capitale : *Staphylococcus aureus*, des espèces de *Streptococcus* (*agalactiae*, *dysgalactiae*, *uberis*) et des entérobactéries notamment *E.coli* (DOMINIQUE, 2010).

➤ *Staphylococcus aureus* :

Est une coque Gram+. On le trouve très majoritairement sur la peau et la muqueuse. La présence de lésion au niveau des trayons (plaies, gerçures, crevasses) ou au niveau de la mamelle (pyodermite d'échauffement par exemple) constituent des réservoirs importants pour ce germe, de même, la présence de crevasse dans les caoutchoucs des manchons de traite constituent des réservoirs bien identifiés (DUREL *et al.*, 2004).

Il s'agit d'un modèle contagieux strict, les animaux sains se contaminent à partir d'animaux infectés particulièrement au moment de la traite (machine et trayeurs). Les infections mammaires à *S. aureus* constituent la principale source de contamination du lait à la production. Cette bactérie a la particularité de se mettre à l'abri dans des micro-abcès et dans les cellules, et de ne plus être excrétée dans le lait : sa recherche peut alors se révéler faussement négative.

Cette bactérie est à l'origine de mammites sub-cliniques dans la majorité des cas qui sont parmi les plus difficiles à guérir par l'antibiothérapie. Elles sont donc très fréquentes. (DUREL, *et al.*, 2004).

➤ *Escherichia coli* :

Est un germe de la famille des Entérobactérie, c'est un bacille Gram négatif. On le trouve en très grande quantité dans la flore fécale qui est à l'origine de la contamination de l'environnement dans lequel évoluent les vaches (logette, aire, paillée) et sont transmises principalement entre les traites (DUREL *et al.*, 2004). Néanmoins, elles peuvent l'être aussi pendant celle-ci, suite à un défaut d'essuyage des trayons en empruntant les modes de transmission des germes de traite.

E.coli est souvent impliqué lors des mammites cliniques. C'est une espèce peu contagieuse (le risque de contaminer un animal sain à partir d'un animal infecté est exceptionnel).

➤ *Streptococcus uberis* :

Il s'agit d'un germe ubiquitaire (qui se multiplie et survit partout), c'est une coque Gram +. Il est présent sur la peau et les trayons de la mamelle, le pelage, les naseaux, la cavité buccale et l'intestin ainsi que dans les voies génitales.

Streptococcus uberis est responsable de mammites cliniques et sub-cliniques. Il est souvent décrit dans deux modèles (environnementaux et contagieux).

2. Agents pathogènes mineurs :

Ces agents infectieux sont considérés comme mineurs du fait de leur moindre importance tant économique qu'épidémiologique. Ils entraînent le plus souvent une réaction modérée de la mamelle, se comportant à la limite entre les agents saprophytes et les agents pathogènes.

Cependant, ils peuvent être parfois à l'origine de mammites cliniques aiguës; il s'agit, en particulier, parmi les plus fréquents, des staphylocoques à coagulase négative, *Micrococcusvarians*, *Actinomycespyogènes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella hemolytica*, *Corynébactériumbovis*, divers *Bacillus*, *Cryptococcusneoformans* et des levures (DOMINIQUE,2010)

Il existe deux grands réservoirs de bactéries (**Tableau 03**):

- **Un réservoir mammaire** : constitué par les quartiers infectés et les trayons crevassés de certaines vaches. Ce sont les sites privilégiés de survie et de multiplication de *S.aureus*, *Streptococcus aglactiae* et *dysgalactiae*. La transmission de ces germes d'une vache à une autre se fait par l'intermédiaire des mains de trayeur, des lavettes communes, des manchons trayeurs (traite mécanique).
- **Les litières** : réservoir de microorganisme d'origine fécale comme les colibacilles et *Streptococcus uberis*, ces microorganismes se trouvent dans la litière soit par le biais des bouses ou de suppurations génitales ; la contamination des trayons se fait donc par contact direct avec les litières contaminées lors du couchage.

Tableau 3: principales espèces de bactéries pathogènes pour la mamelle et leurs réservoirs (DOMINIQUE, 2010)

Microorganismes	Réservoirs		
	Mamelle infectée	Lésion du trayon	Environnement
De réservoir mammaire :			
<i>Staphylococcus.aureus</i>	+++	+++	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	+++	+++	-
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	++	+++	-
D'environnement :			
<i>Streptococcus uberis</i>	+	+	+++
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+++

II.4. Evolution des mammites :

L'établissement de l'infection et le déclenchement de la mammite dépendent à la fois de la virulence des microorganismes et des capacités de la défense naturelle ou induite de l'hôte, plusieurs étapes se succèdent lors du processus infectieux :

4.1. La phase d'invasion : elle se déroule en deux étapes :

- **Exposition de la mamelle à l'agent pathogène :**

Le processus infectieux commence par la contamination de l'extrémité du trayon surtout entre les traites ou pendant la traite. Dans le premier cas, les facteurs de l'environnement tels que les logements, le climat et la litière jouent un rôle déterminant. Ils peuvent, dans des circonstances défavorables, contribuer à la multiplication des bactéries dans le milieu extérieur. Dans le deuxième cas, il a été démontré que la contamination du trayon est largement influencée par la morphologie de la mamelle et ces trayons.

D'une manière générale, les mamelles pendulaires, les longs trayons et les trayons cylindriques réduisent les distances par rapport au sol et augmentent les risques de traumatismes accidentels. Or, les lésions ainsi créées constituent des réservoirs de microorganismes qui augmentent les probabilités d'infection des quartiers (DOMINIQUE, 2010)

- **Pénétration des microorganismes**

Les bactéries peuvent franchir le canal du trayon, d'une part par des erreurs de traite, notamment surtraite ou vide trop important qui provoque la destruction partielle de la kératine du canal du trayon en favorisant l'impact de gouttelettes de lait chargées en bactéries, d'autre part, les animaux ayant les diamètres du canal les plus larges seraient plus exposés aux infections ainsi que les lésions ou les coupures profondes qui transforment les trayons en des réservoirs importants pour les microorganismes pathogènes comme *Staphylococcus aureus* et les streptocoques (DOMINIQUE, 2010).

4.2. La phase d'infection :

C'est le stade où les germes passent de la partie inférieure du sinus du trayon au sinus de la mamelle (**figure 02**), aux canaux et canalicules lactifères et finalement aux acini mammaires. Les germes vont coloniser la mamelle et les enzymes et les toxines qui sont élaborées lors de leur multiplication vont d'une part entraîner des lésions du tissu sécrétoire avec pour conséquence des modifications quantitatives et qualitatives de la production, d'autre part, initier une réaction inflammatoire dans la composante principale est l'afflux de polynucléaires neutrophiles (DOMINIQUE, 2010)

4.3. La phase d'inflammation :

L'inflammation est la réponse de l'organisme face aux bactéries. Rapidement, il met en fonction un ensemble de mesures bien adaptées à l'importance de l'agent agresseur, aux dommages cellulaires et tissulaires. Cette réaction inflammatoire est caractérisée par la sécrétion locale de substances immunomodulatrices (cytokines) et par l'augmentation de la perméabilité de l'épithélium des alvéoles, préalable à l'afflux dans le lait de cellules phagocytaires et de diverses substances effectrices (Immunoglobulines, complément, lactoferrine...) en provenance de la circulation sanguine (FAROULT.,2000)

L'inflammation peut s'accompagner de signes cliniques locaux tels que la présence de grumeaux dans le lait, de quartiers durs, enflés ou douloureux, mais, le plus souvent,

l'inflammation est sub-clinique, sans aucune anomalie directement perceptible du lait, de la mamelle ou de l'état général

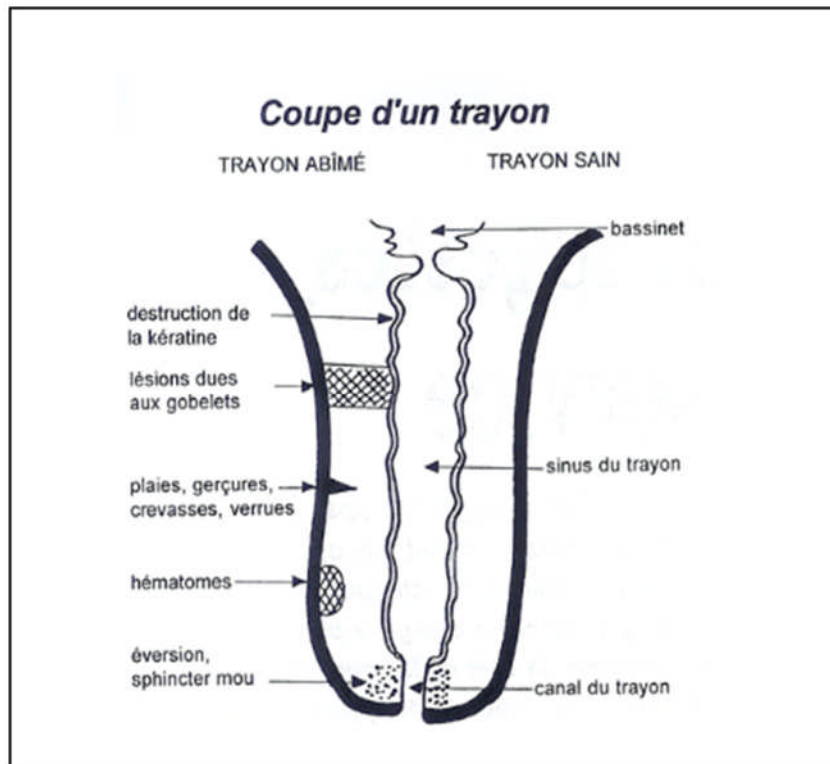


Figure 02 : Coupe longitudinale d'un trayon (DOMINIQUE, 2010)

Les mammites sont les résultats d'une compétition entre un germe et les cellules de la ligne blanche, les trois issues possibles sont : guérison, mammite sub-clinique ou mammite clinique : (Figure 03)

- Les cellules gagnent : il s'agit alors d'une guérison spontanée.
- Les bactéries gagnent : il s'agit d'une mammite clinique ou visible, matérialisée à minima par des modifications du lait observables par l'éleveur lors de la traite.
- Le troisième cas de figure est intermédiaire : il n'y a pas de mammite visible mais la vache a conservé des cellules, c'est-à-dire des témoins d'une inflammation persistante, dans sa mamelle. On parle alors de mammite sub-clinique ou de mammite invisible puisqu'il n'y a pas de signes locaux ou généraux objectivables. Cela s'explique par le fait que ni les cellules ni les bactéries « n'ont le dessus » les unes sur les autres. (DOMINIQUE, 2010)

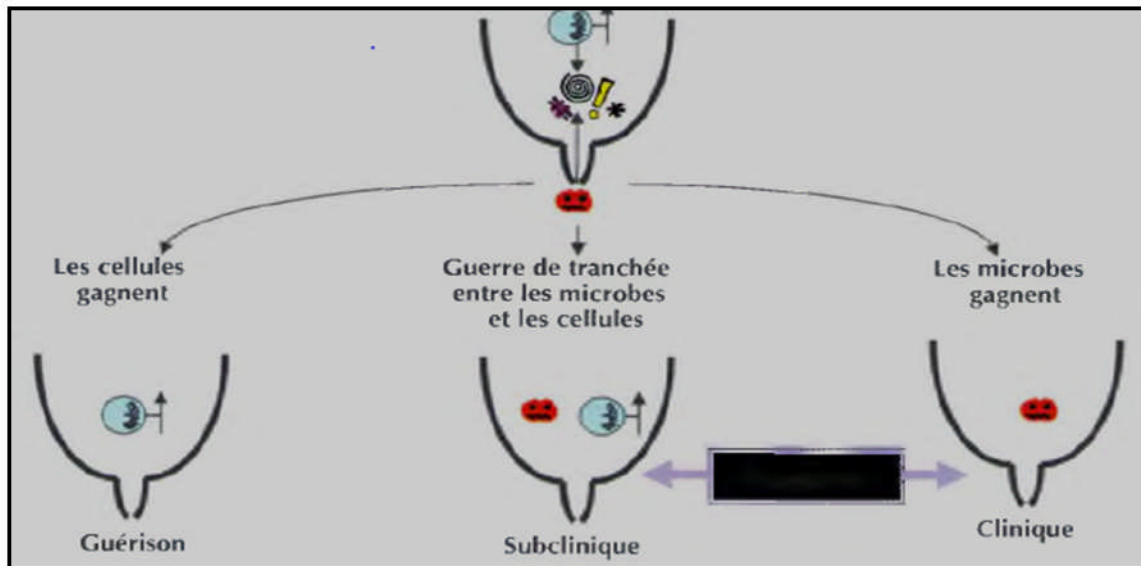


Figure 03 : Les trois possibilités d'évolution lors de l'apparition d'une mammite (DOMINIQUE, 2010)

II.5. Facteur influençant les infections de la mamelle

Les causes d'apparition des mammites sont liées aux facteurs favorisant la transmission des agents pathogènes. Ces facteurs dépendent principalement de la sensibilité propre des animaux et de l'environnement.

a) Sensibilité de l'animal :

- Certains facteurs liés à l'hérédité jouent un rôle. En la conformation et l'état de la mamelle et surtout du trayon, particulièrement le diamètre de l'orifice du canal sont des facteurs associés à une grande fréquence de mammite.
- La mamelle volumineuse et le relâchement ligamentaire (mamelle flasque) prédisposent aux traumatismes et au frottement contre les membres postérieurs, la litière et les bordures des stalles ; or toute affection ou lésion du trayon favorise l'infection mammaire en réduisant les défenses naturelles.
- La fréquence des mammites augmente aussi avec l'âge de l'animal en raison de la diminution de l'efficacité de son système immunitaire.
- Le stade de lactation joue un rôle important. En effet les infections nouvelles se déclarent le plus souvent au cours des deux premiers mois de lactation. Ce phénomène serait dû à la diminution de l'activité phagocytaire des polymorphonucléaires neutrophiles au niveau de la mamelle (DOMINIQUE, 2010)

b) Facteurs liés à l'environnement :

b.1. Conduite de la traite : la machine à traire elle-même (mauvais réglage des paramètres de fonctionnement, manchons trayeurs usagés) peut provoquer et entretenir des lésions traumatiques qui amoindrissent les moyens de défense naturelles du trayon contre les infections en rendant la traite douloureuse, car le tissu mammaire est très délicat.

Le transfert des agents de mammites dans le troupeau se fait lors de la traite de quartier à quartier et de vache à vache par l'intermédiaire des mains du trayeur et des lavettes.

b.2. conditions de stabulation : tout ce qui constitue une entrave à la liberté de mouvement des vaches favorise les risques de contusions des trayons et par conséquent, d'amoindrissement des défenses naturelles contre les infections.

D'autre part, de mauvaises conditions d'ambiance (renouvellement d'air insuffisant, courant d'air, humidité excessive, etc...) favorisent la prolifération dans les litières de nombreux germes et notamment des entérobactéries, entraînant une contamination lors du couchage (DOMINIQUE, 2010)

II.6. Diagnostic des mammites:

La difficulté n'est pas de reconnaître une mammite clinique dont les symptômes sont patents. L'enjeu est de reconnaître une infection mammaire aussi précocement que possible. La détermination précoce de ces infections permet la mise en place rapide de traitement augmentant notablement les chances de guérison et évitant ainsi le passage à la chronicité. Toutefois les infections mammaires peuvent s'exprimer de façon très différente en fonction du type de germe rencontré et de l'état physiologique de l'animal. Un diagnostic étiologique peut s'avérer utile.

Il existe actuellement plusieurs méthodes de diagnostic des infections intra-mammaire :

II.6.1 Examen clinique

L'examen clinique de la mamelle et des sécrétions mammaires constitue le pilier de la démarche de diagnostic des mammites. C'est le moyen le plus simple et le moins onéreux disponible. Cet examen doit être réalisé en trois temps :

- Examen visuel de la mamelle
- Palpation de la mamelle
- Examen visuel des sécrétions mammaires.

L'examen clinique de la mamelle et du lait permet de mettre en évidence un processus inflammatoire qui peut être induit par une infection. Ce processus inflammatoire est proportionnel au caractère pathogénique du germe en cause. (POUTREL, 2002).

La mise en évidence des modifications tant au niveau de la mamelle que du lait n'est pas toujours aisée. Dans le cas des mammites sub-cliniques, elle peut même être impossible (pas de modification du lait et de la mamelle). L'utilisation régulière d'un bol à fond noir peut faciliter la tâche. La détection des premiers symptômes est une des clefs de la réussite des traitements (LEPAGE, 2003).

II.6.2 Examen bactériologique :

L'examen bactériologique du lait consiste à mettre en évidence et à identifier des bactéries pathogènes présentes dans le lait. La glande mammaire est normalement stérile, l'isolement d'une bactérie dans son lait signifie qu'elle est atteinte d'infection intra-mammaire. L'examen bactériologique du lait est considéré comme la méthode de référence en matière de classification d'individus infectés et non infectés et la prévalence des infections mammaires ainsi estimée est qualifiée de prévalence réelle.

II.6.3.Méthodes alternatives :

➤ Méthodes basées sur la réponse immunitaire de l'animal :

L'infection intra-mammaire se traduit le plus souvent, par une élévation de la concentration en cellules somatiques (CCS). Le diagnostic est basé sur la mesure directe de la (CCS) ou indirecte (CMT) des cellules présentes dans le lait. (SERIEYS, 1985a).

➤ Le test de la catalase :

L'action de la catalase des leucocytes et des bactéries du lait sur le peroxyde d'hydrogène induit l'apparition d'oxygène. La formation de 20, 30 et 40% de gaz correspondant respectivement à la présence de 500000, 1.10^6 et 2 à 3.10^6 cellules par ml de lait. Cette méthode requiert assez bien de temps (3 heures environ) et un matériel assez coûteux. Par ailleurs, après 24 heures de conservation, la formation de gaz s'accroît (HANZEN ,2008).

➤ Méthode basée sur la modification de la perméabilité capillaire :

Il s'agit de la mesure de certains paramètres biochimiques tels que la sérualbumine, l'antitrypsine et les ions Na^+ , Cl^- , K^+ .

➤ **La conductivité électrique du lait (CE) :**

Cette méthode de diagnostic plus récente s'adresse au dépistage non seulement des mammites cliniques mais également aux mammites sub-cliniques. Elle est basée sur la capacité du lait à conduire le courant électrique et aux variations observables lors d'infection mammaire. L'inflammation peut conduire à une altération de l'épithélium sécrétoire et une modification de la perméabilité capillaire. Une augmentation de la concentration en ions Na⁺ et Cl⁻ dans le lait se produit, alors que la concentration de K⁺ diminue en raison de la destruction des liaisons entre les cellules et de l'altération du système de pompage ionique provoquées par les germes pathogènes. L'unité de mesure de la conductivité électrique est mS/cm. Pour un lait normal, les valeurs se situent entre 4,0 et 5,5 mS/cm à 25°C (BILLON *et al.*, 2001).

II.7. Traitement des mammites sub-cliniques :

Ces mammites sont les mieux traitées au tarissement. En général, le traitement aux antibiotiques est inefficace pendant la lactation ; par contre, le traitement au tarissement est très efficace pour guérir de nombreuses mammites sub-cliniques (SERIEYS, 1997).

Chapitre III :
Conséquences des
Mammites sur
La filière lait

Les mammites sub-cliniques sont plus fréquentes que les mammites cliniques (SHUKKEN *et al.*, 1995). La prévalence des mammites sub-cliniques est estimée entre 17% (PLUVINAGE *et al.*, 1991) et 78% (TUTEJA *et al.*, 1993) de l'ensemble des mammites. Elles ne peuvent être détectées par l'éleveur et causent par conséquent beaucoup de pertes. Elles entraînent, d'une part, la baisse de la production de lait de 15 à 45% dans les élevages atteints (DOHO et MEEK, 1982) et, d'autre part, la baisse de la qualité hygiénique et nutritive du lait et ses dérivés avec des répercussions défavorables sur la santé humaine (SERIYES, 1995).

1. Conséquences hygiéniques des mammites:

Les mammites portent atteinte à l'hygiène animale et potentiellement à la santé publique. Le risque lié à la contamination du lait par certains germes pathogènes et/ou leurs toxines ainsi que les résidus d'antibiotiques après traitement, fait l'objet des préoccupations de santé publique. En effet, le lait « mammitique » peut être vecteur d'agents responsables de toxi-infections alimentaires. De fait, en l'absence de pasteurisation, des germes pathogènes pour l'Homme provenant de quartiers infectés peuvent contaminer les produits laitiers. (DEBREIL, 2008)

- Quelques souches de *Staphylococcus aureus* produisent des enterotoxines thermostables pouvant entraîner des troubles digestifs graves (des nausées, des vomissements et des diarrhées). Environ 38% des toxi-infections alimentaires présumées à *S.doré* sont dues à des produits laitiers.
- Les coliformes : sont responsables des troubles digestifs.
- *Streptococcus agalactie* a été retrouvé comme cause d'infection chez l'homme, dans des cas d'endocardite et de méningite (DEBREIL, 2008)
- Listéria : les formes graves de listériose peuvent entraîner des avortements, méningite et sont parfois mortelles chez l'homme.

1. Conséquence sur la production laitière

Les coûts occasionnés par les mammites sont des frais vétérinaires et de médicaments et des coûts dus à l'élimination du lait non commercialisable. D'autres conséquences sont le recule des performances laitières des animaux concernés, d'éventuelles déductions du prix du lait, des abatages précoces, un risque d'infection accru pour les autres vaches, une plus

grandes susceptibilité des animaux à d'autres maladies et du travail supplémentaire, par exemple lors de la traite.

Le poids de ces différents facteurs dépend d'autres circonstances, telles que par exemple le schéma du paiement du lait à la qualité, l'intensité de la production, les produits fabriqués avec le lait. De nombreuses études ont montré que les pertes de production augmentent parallèlement aux nombres croissants des cellules. Les pertes peuvent se monter à 10% jusqu'à 30% de la performance de lactation.

Les vaches souffrant de mammites sont souvent abattues plus vite et occasionnent ainsi, outre les coûts directs, également des coûts indirects en raison du rendement laitier plus faible des jeunes vaches. (WALTER., 2007)

3. Changements de compositions du lait dus aux mammites :

Selon le degré de gravité de la mammite, on obtient un lait plus ou moins modifié. Le changement de composition peut varier d'une modification à peine perceptible à une modification aisément visible, avec toute une échelle de possibilités intermédiaires. Elles entraînent en général, une diminution de la teneur en lactose, une altération de la membrane des globules gras favorisant la lipolyse, une diminution de la teneur en caséines, une augmentation de la teneur en protéines solubles et en enzymes ainsi qu'une modification des équilibres salins (Munro *et al* 1984, Coulon *et al* 2002). Ces effets résultent d'un dysfonctionnement de la glande mammaire entraînant un transfert accru de certains composés du sang vers le lait (**tableau 04**).

- **Teneur en protéine :** La teneur en protéines totales du lait provenant de vaches atteintes de mammites est plus élevée, suit à une augmentation de la teneur en protéines solubles. La variation de la teneur en protéines solubles dans le lait est fonction de leur origine : les protéines synthétisées localement (β lactoglobuline et l' α lactalbumine) diminuent tandis que celles provenant du sang (Immunoglobuline G, séralbumine, transferrine et lactoferrine) augmentent. (SERIEYS *et al.*, 1985)
- **Teneur en matière gras :** l'issue de nombreuses observations effectuées sur le lait mammitieux, une baisse de la quantité de matière grasse (de 5 à 9%) est constatée.

La composition de cette matière grasse est également modifiée : on observe une augmentation des acides gras libres et notamment des acides gras à chaînes longues et une baisse des phospholipides (SERIEYS *et al.*, 1985). Le diamètre des globules gras diminue.

- **Teneur en lactose :** Le lactose est le composant du lait dont le taux, en cas de lait de mammité, est le plus affecté.

Ce phénomène est dû à la moindre capacité d'élaboration de la glande et de la présence d'un taux inférieur à la normale d' α lactalbumine (cette protéine est un facteur enzymatique, en partie responsable de la synthèse du lactose) (SERIEYS *et al.*, 1985)

- **Modification de l'équilibre salin :** La pression osmotique est maintenue par le passage de chlore et de sodium du sang vers le lait ; de ce fait, la teneur minérale du lait évolue vers celle du sérum sanguin ; on constate, outre l'élévation du chlore et du sodium, une diminution du taux de potassium, du taux de calcium et de phosphore, et du taux de citrate. A ce bouleversement des équilibres minéraux, s'associe une augmentation du pH qui passe de 6,6 à 6,9 (WAES., 1969)
- **Effet des cellules somatiques sur la qualité du lait :** Des changements dans la composition du lait interviennent à partir de 50 000 à 100 000 cellules /ml. Un CCS élevé réduit la durée de conservation du lait. En effet, le lait contenant un nombre de cellules somatiques élevé contient aussi une plus grande quantité de substances normalement retrouvées dans le sang comme des enzymes qui peuvent dégrader des protéines ou des lipides dont la plasmine. De plus, les leucocytes eux même contiennent des substances chimiques qui les aident dans leur rôle de défense. Avec le temps, ces substances amènent une dégradation plus importante des protéines et des lipides du lait et par conséquent, une réduction plus rapides de la qualité organoleptiques du lait et cela même si le lait a été pasteurisé (DOMINIQUE, 2010)

On trouve dans le lait de mammité, de très nombreuses enzymes d'origines diverses généralement absentes de la composition normale du lait et notamment des lipases et des protéases qui peuvent jouer un rôle dans la stabilité des produits laitiers : leurs qualités organoleptiques peuvent être altérées (SERIEYS *et al.* , 1985).

A la suite de cette étude, et en observant les multiples variations des laits mammitéux et de leur conséquence en technologie laitière, on conçoit l'importance de la détection des mammites sub-cliniques et surtout des méthodes pour lutter contre l'apparition de cet état sanitaire amoindri.

Tableau 04: Changement de composition du lait causé par les mammites (WATTIAUX, 1995)

Constituant	Changement	Raison
-Caséine -Lactose -Matière grasse	Diminution	Diminution de la synthèse
-Protéines solubles -Chlore -Sodium	Augmentation	Passage passif du sang vers le lait

4. Conséquence pour la mise en valeur du lait :

Au niveau de la mise en valeur du lait, des coûts sont avant tout occasionnés en raison de la teneur en caséine plus faible et des moins bonnes aptitudes transformatrices. La teneur en caséine du lait de fabrication revêt une importance centrale pour la fabrication de fromage. La caséine est le facteur décisif pour le rendement lors de la fabrication de fromage et représente entre 72% et 78% de la protéine totale. Le rendement en fromage dépend linéairement de la teneur en caséine du lait.

Le lait provenant de vache souffrant d’une mammite présente d’autres caractéristiques négatives qui peuvent entrainer des problèmes de qualité telle qu’une mauvaise aptitude à la conservation au des défauts au niveau du goût (WALTER, 2007).

5. Quelques mesures pour prévenir des mammites :

Le lait est une denrée fragile dont le devenir industriel (lait en nature, beurre, fromage) dépend de sa qualité. La production d’un lait de qualité n’exige ni des installations coûteuses dans la ferme, ni des transformations ruineuses dans le système commercial et industriel ; il faut surtout un suivi rigoureux et permanent des bonnes pratiques d’hygiène tout le long du circuit de sa production notamment à la traite (DOMINIQUE, 2010)

Une échelle récente mise au point par le National Mastitis Council américain, aborde la prévention des mammites sous 10 points (DUREL *et al* ; 2011).

- Etablir des objectifs pour la santé de la mamelle.
- Maintenir un environnement propre, sec et confortable.

- Appliquer des méthodes de traite efficaces et physiologiques.
- Entretien de l'équipement de traite et apprendre à s'en servir.
- Enregistrer soigneusement les cas de mammites cliniques.
- Avoir une gestion efficace de la mammites clinique pendant la lactation.
- Adopter une conduite rationnelle des vaches tarées.
- Mettre en place des mesures de biosécurité.
- Mesurer régulièrement les CCSI.

La prévention des nouvelles infections mammaires se déroule en très grande partie durant la traite. Un bon fonctionnement de la machine à traire, une bonne hygiène et une bonne maîtrise technique du trayeur permettent de limiter ce risque (DOMINIQUE, 2010).

✓ **Le trayeur :**

- Il doit se laver les mains soigneusement avant la traite et revêtir une tenue propre réservée à la traite. Le port de gants (latex, vinyle ou autre) peut être préconisé.
- Son organisation doit permettre de bien préparer les vaches, de faire un examen systématique des premiers jets, de poser les griffes en limitant autant que possible les entrées d'air et de déposer les griffes au bon moment, tout en surveillant les incidents survenant pendant la traite (chute faisceaux trayeurs, souillures des griffes ou des quais...) et, enfin, de réaliser un post-trempage sur tous les animaux.
- Lorsque plusieurs trayeurs réalisent la traite, leur organisation doit être identique.

✓ **La machine à traire**

- Un contrôle optimal de la traite doit être réalisé tous les ans.
- Les manchons doivent être changés toutes les 2 500 traites.
- L'état de la tuyauterie doit être contrôlé régulièrement.
- Les filtres du régulateur et du système de pulsation sont à nettoyer tous les mois.
- Le niveau de vide doit être contrôlé au moins une fois par semaine sur le manomètre.
- L'état des courroies de la pompe ainsi que le niveau d'huile sont contrôlés régulièrement.
- Son lavage complet doit être réalisé après chaque traite.

- Un système adapté permet de couper le vide lors du branchement d'un bidon de traite (pince sur les tuyaux).

✓ **Les animaux**

- Les mamelles et les trayons doivent être aussi propres que possible en entrant dans la salle de traite.

- La conformation des mamelles doit être le plus homogène possible, avec un minimum de trayons en dessous des jarrets.

✓ **Le petit matériel** (gobelets de trempage - bol à fond noir - seaux- lavettes...)

-Il doit être propre et bien nettoyé après chaque traite.

Partie II :
Partie
Expérimentale

Chapitre IV :
Matériels
Et méthodes

1-Objectif de l'étude :

Notre étude s'est fixé comme objectif d'évaluer les risques microbiologiques du lait cru issu des vaches atteintes d'une mammites sub-clinique provenant de six fermes de la commune de « Ait Toudert », située dans la région des Ouacifs. En vue de sa réalisation, nous avons effectué un dépistage pour mettre en évidence la prévalence des mammites sub-cliniques, nous avons isolé les germes les plus incriminés dans cette infection afin d'établir des recommandations visant à minimiser le taux des mammites sub-cliniques.

2-Période d'étude :

Notre étude à été réalisé entre le mois de Mars et le mois de Mai (au printemps).

3-Présentation de la région d'étude :

La commune d'Aït Toudert se situe au Sud de la wilaya de Tizi Ouzou, en Algérie. Elle est administrativement rattachée à la Daïra de Ouacifs (Ath Ouacif en kabyle) et elle s'étend sur 17,1750 km² du versant nord du massif du Djurdjura. La commune est composée de 13 villages. Le nombre d'éleveurs à Aït Toudert est de 123 éleveurs et l'effectif des bovins élevés est de 1019 têtes, avec une production laitière de 1800 L/jour entre le mois de Février et le mois de Juillet et 1000 L/jour entre le mois d'Août et le mois de Janvier (SELON LE SERVICE AGRICOLE DE L'APC D'AÏT TOUDERT, 2016).

4-Présentation des laboratoires d'analyses :

REGILACQ : EURL REGILACQ est le Laboratoire Régional d'Analyse et de Contrôle de la qualité des produits alimentaires, des produits d'entretien domestiques, des produits cosmétiques et des eaux. Il se situe à la wilaya de Tizi-Ouzou.

OVOLABE : Est un laboratoire privé d'analyse et de contrôle de la qualité des produits alimentaire. Il se situe à la wilaya de Tizi-Ouzou. Il est surtout spécialisé dans l'analyse et le contrôle du lait et des produits dérivés

5. Prélèvement d'échantillon :

Les prélèvements doivent correspondre à l'objectif que l'on s'est fixé qui est l'étude des mammites sub-cliniques chez les vaches laitière en lactation. Pour cela, avant d'effectuer les prélèvements, un test CMT a été réalisé au niveau de chaque ferme et pour les quatre quartiers de chaque vache en lactation. Le lait des quartiers présentant des CMT positif a été prélevé.

5.1. Test CMT (California Mastitis test) ou test teepol ou leucocyte test:

California mastitis test s'adresse à la détection de mammites sub-cliniques, le CMT sert à évaluer le niveau d'infection de la mamelle (nombre de cellule par ml de lait), basé sur une appréciation visuelle des résultats.

- Il est facilement utilisable en élevage ;
- Il permet de détecter des vaches à taux cellulaires élevés ;
- Il peut également être utilisé en contrôle de guérison, afin de vérifier que le taux cellulaires revient à des valeurs normales en trois mois après l'infection.

Le principe du test :

Son principe repose sur l'utilisation d'un corps tensio-actif (Teepol à 10%) qui fait éclater les cellules somatiques et réagit avec leur ADN en formant un gel dont la viscosité d'autant plus élevée que la teneur encellules est importante. Ce détergent permet l'appréciation visuelle de la viscosité du précipité obtenu qui permettra d'apparier le niveau d'infection de la mamelle (LARPENT, 1990).

Le test a été réalisé comme suit :

- Mettre 2 millilitres de lait dans une palette à fond noir.
- Ajouter le même volume de réactif Leucocyt test.
- Imprimer un mouvement circulaire au plateau une dizaine de fois pour bien mélanger le réactif et le lait.
- La réaction est numérotée de 0 à 4, en fonction du niveau d'infection (**Tableau 05**).

Dans cette étude, les quartiers dont le score CMT est ≥ 2 sont considérés comme infectés (les quartiers dont le score CMT 0 et 1 sont classés non infectés).

Tableau 05 : Interprétation des résultats CMT (LARPENT, 1990)

Interprétation	Score	Nombre de cellule /ml
Formation d'un gel épais = mammite	04	Plus de 5.10^6
Formation d'un flocculat épais adhérent en particules visqueuses au fond de la palette = mammite	03	$8.10^5 - 5.10^6$
Flocculat persistant très léger surtout visible par transparence sur fond noir,	02	$4.10^5 - 5.10^5$
Léger flocculat disparaissant après dix secondes	1	$2.10^5 - 5.10^5$
Aucun flocculat	0	Moins de 2.10^5

5.2. Technique de prélèvement :

La technique de prélèvement s'est inspirée des méthodes de BIND *et al.* (1980) et MIALOT (1983). (voir annexe II).

5.3. Conservation des prélèvements :

Pour chaque visite dans les fermes, tous les prélèvements réalisés étaient conservés et transportés dans un bac isothermique (glacière + bains de glace) et ceci d'une manière à éviter toute détérioration de la qualité du lait jusqu'au moment d'analyses au laboratoire.

Nous avons procédé à faire les analyses microbiologiques 2 à 3 heures après la réalisation des prélèvements .

A l'arrivé au laboratoire, dans une zone stérile près du bec Benzène, les échantillons prélevés de chaque vache de la même ferme ont été mélangé dans un flacon stérile. Après homogénéisation de ce dernier, le lait marmiteux est reparti en deux flacons l'un servira pour le comptage de cellules somatiques et l'autre pour l'analyse microbiologique.

6. Le comptage des cellules somatiques :

La présence d'un agent infectieux dans un quartier provoque une élévation des numérations cellulaires du lait de ce quartier, sans qu'il soit possible d'observer des signes visibles de cette infection. Il est alors absolument impossible, par la seule observation du lait ou de la mamelle, de détecter si l'animal est infecté ou non.

Dans ce contexte, la recherche d'un marqueur de l'infection est indispensable. Le taux des cellules somatiques du lait sont révélés très bon indicateur de l'état d'inflammation de la mamelle. Les cellules somatiques appartiennent à l'animal et sont émises avec le lait lors de la traite.

La méthode utilisée :

C'est une méthode récente, utilisée pour comptage cellulaire à l'aide d'un analyseur de cellules somatiques, son principe repose sur l'utilisation d'un détergent qui fait éclater les cellules somatiques et réagit avec leur ADN en formant un gel dont la viscosité d'autant plus élevée que la teneur en cellules est importante.

L'analyse a été réalisée comme suit :

- Mettre 10 ml de lait cru dans un ballon en verre.
- Ajouter 5 ml de détergent.
- Mettre l'appareil en marche.
- le mélange (lait et détergent) est homogénéisé par la rotation automatique de ballon en verre pendant 15 secondes.
- lire sur l'écran de l'appareil le nombre de cellules somatiques par cm³ de lait.

7. Analyses microbiologiques :

Les analyses microbiologiques du lait cru consistent en la recherche et/ou le dénombrement d'un certain nombre de microorganismes susceptibles d'être présents dans ce dernier.

Les analyses effectuées dans cette étude sont basées sur les spécifications microbiologiques indiquées dans le **J.O.R.A.** n°35 du 27 Mai 1998 et du **J.O.R.A** du 18 Aout 1993.

Trois types de micro-organismes sont recherchés dans cette analyse, Il s'agit des micro-organismes responsables de l'altération (Flore Mésophile Aérobie totale), des microorganismes

indicateurs de la contamination fécale (les Coliformes fécaux) et des micro-organismes pathogènes responsables de toxi-infections alimentaires (*Staphylococcus aureus*).

7.1. Préparation des dilutions :

Toutes les manipulations sont réalisées dans une zone stérile près du bec Benzène.

- **Principe :** Vu la charge microbienne que contient le lait et la difficulté du dénombrement directe sur l'échantillon, on procède à la dilution des échantillons.
- **Mode opératoire :** A partir du lait bien homogénéisé par agitation, considéré comme étant la suspension mère (SM), nous avons réalisé une série de dilutions de 10^{-1} à 10^{-6} (ISO 6887-1)
La technique est la suivante :

- A partir de la suspension mère, prélever 1 ml à l'aide d'une pipette stérile et l'introduire dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique ;
- Agiter bien la suspension microbienne obtenue ;
- Après agitation de la dilution 10^{-1} , pipeter 1ml vers un tube contenant 9ml d'eau physiologique et agiter bien la solution ;
- Procéder de la même manière pour les dilutions $10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$.
- Au moment de la réalisation des dilutions décimales, il est impératif de changer de pipette entre chaque dilution.
- Agiter toutes les dilutions immédiatement avant d'effectuer le transfert afin d'assurer que les microorganismes présents sont distribués de façon uniforme.

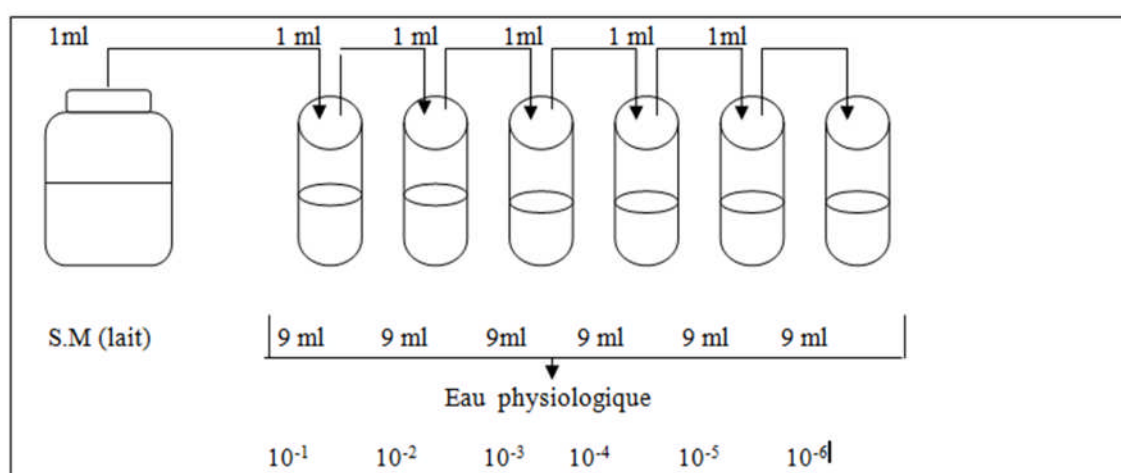


Figure 04 : Préparation des dilutions décimales à partir de la suspension mère (lait)

7.2. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FMAT) :

Le dénombrement des FMAT reflète la qualité microbiologique générale du produit. Ces microorganismes peuvent dégrader les aliments et causer par la suite des troubles digestifs (toxi-infection alimentaire ou intoxications) ou des allergies aux consommateurs. Il s'agit de tous les microorganismes, c'est-à-dire des bactéries, levures et moisissures susceptibles de donner des colonies visibles après 72 h d'incubation à 30°C dans une gélose PCA (NF V08-051) in (GUIRAUD et ROSEC, 2004).

❖ **Mode opératoire** : les étapes de cette analyse sont :

- Préparer sept boîtes de Pétri stériles, une pour le témoin gélosé et les autres pour l'ensemencement ;
- A partir des dilutions, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , transférer aseptiquement 1ml dans une boîte de Pétri vide pour chaque dilution ;
- Ajouter 15ml de gélose PCA fondue et refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$;
- homogénéiser l'inoculum dans la gélose, en faisant des mouvements circulaires et de va-et-vient, en forme de « 8 ».
- Après solidification la gélose, rajouter une deuxième couche de la gélose PCA (environ 5ml), cette double couche a un rôle protecteur contre les diverses contaminations.
- Incuber les boîtes de Pétri avec « le couvercle en bas » dans une étuve à 30°C pendant 72h.

❖ **Lecture** : la présence des germes se traduit par l'apparition de colonies blanches lenticulaires poussant en masse. Pour le dénombrement, sélectionner les boîtes qui contiennent de 30 à 300 colonies, y compris les petites colonies.

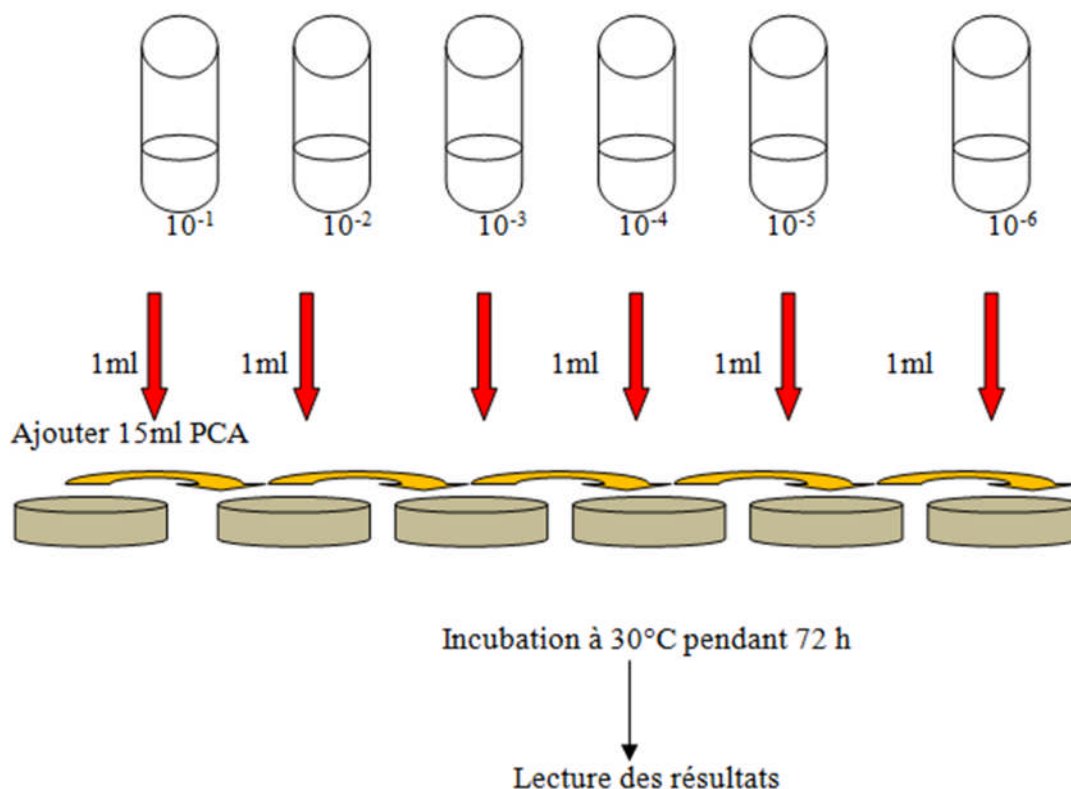


Figure 05 : Le diagramme de dénombrement des FMAT

7.3. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux :

Les coliformes fécaux se développent à 44°C et leur présence dans les aliments témoigne d'une contamination fécale (GUIRAUD, 1998).

Le dénombrement des coliformes fécaux peut s'effectuer soit par colimétrie milieu liquide sur bouillon lactosé bilié au vert brillant) soit sur milieu solide Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre) préconisé par l'AFNOR (1974).

Dans notre travail, nous avons effectué la méthode en milieu solide, en utilisant la gélose VRBL (VF V 08-050,1999) in (GUIRAND et ROSEC, 2004).

❖ **Mode opératoire** : l'analyse est effectuée comme suit :

- Préparer sept boîtes de Pétri stériles, une pour le témoin gélosé et les autres pour l'ensemencement ;
- A partir des dilutions, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6} , transférer aseptiquement 1ml dans une boîte de Pétri vide pour chaque dilution préparée à cet usage et numérotée ;
- Compléter ensuite avec environ 15ml de gélose VRBL fondue et refroidie à $45\pm 1^{\circ}\text{C}$;

- Faire des mouvements circulaires en forme de « 8 », pour permettre à l'inoculum de se mélanger puis laisser solidifier, rajouter après une deuxième couche de la gélose.
- Incuber les boîtes de Pétri dans une étuve avec le couvercle en bas à 30°C pendant 24h.
- ❖ **Lecture :** les coliformes apparaissent sous forme de colonies violacées (lactose+) avec un diamètre égale ou supérieur 0,5 mm

Pour le dénombrement, on sélectionne les boîtes qui contiennent entre 15 et 150 colonies.

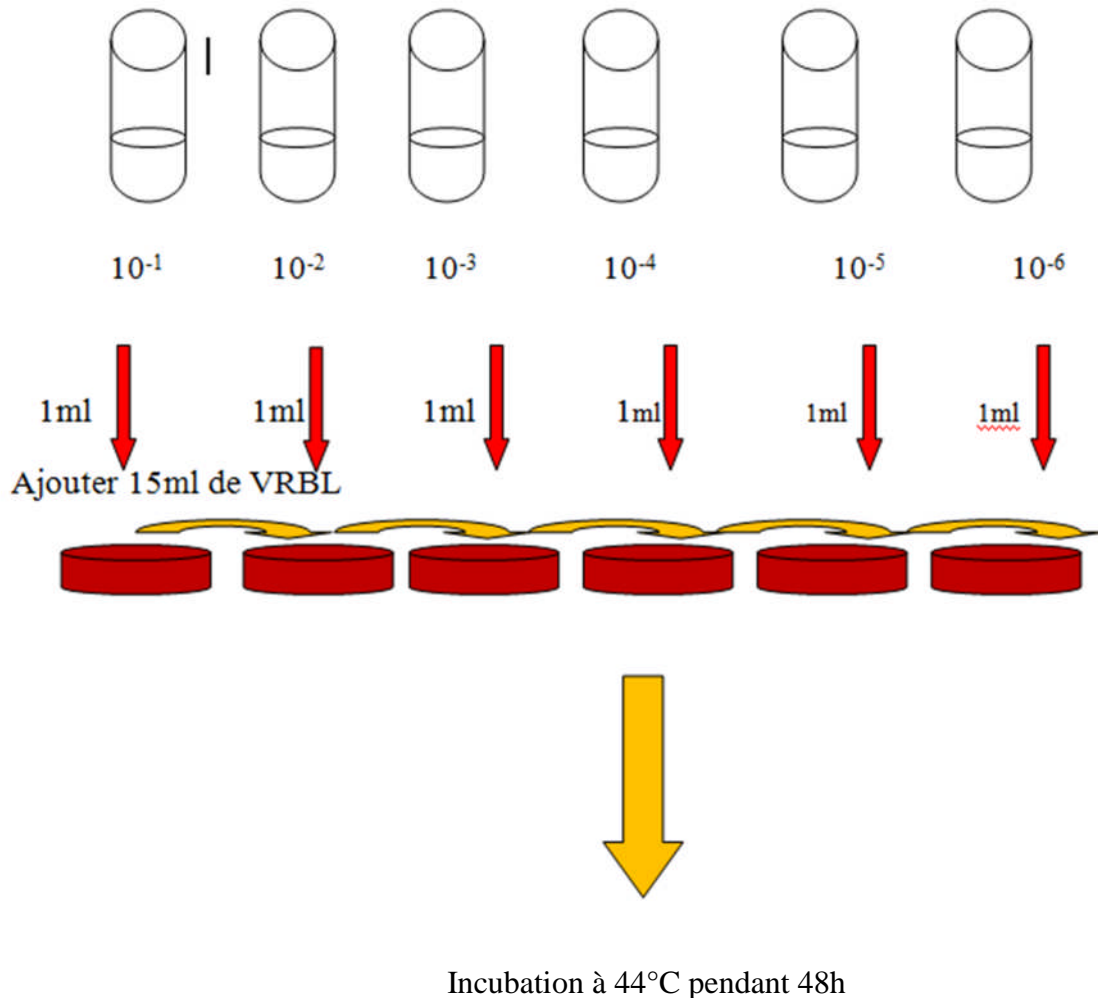


Figure 06 : Dénombrement des Coliformes fécaux

7.4. Recherche et dénombrement de staphylocoque aureus

Les staphylocoques attirent l'attention de l'hygiéniste alimentaire, car en plus de l'aptitude à élaborer des enterotoxines extrêmement active qui provoquent des intoxications, on remarque aussi une relative antibio-résistance de l'espèce *Staphylococcus aureus* (HILL, 1983).

Les staphylocoques appartiennent à la famille des Micrococcaceae, ils sont à Gram⁺, immobiles, non sporulés, groupés en grappe de raisin, et sont catalase positif la mise en évidence de leur pouvoir pathogène se fait par la recherche de la coagulase (GUIRAUD, 1998).

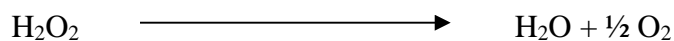
- **Mode opératoire :** les étapes de l'analyse sont :
 - Faire fondre un flacon de la gélose de Chapman dans un bain-marie, puis refroidir à 45°C ;
 - Répartir le milieu en boîtes de Pétri à raison de 15 à 20 ml par boîte, puis laisser se solidifier ;
 - A partir des dilutions décimales 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ et 10⁻⁶, transférer à l'aide d'une pipette stérile 0.1ml de chaque dilution étaler en surface de la gélose sur les boîtes de Pétri ;
 - Garder les boîtes en position non-inversée jusqu'à ce que le milieu ait absorbé l'inoculum (environ 10 minutes) ;
 - Incuber avec le couvercle en bas à 37°C pendant 24h ;
- **Lecture :** les colonies de staphylocoque apparaissent : Les colonies de *Staphylococcus aureus* sont rondes, régulières, bombées, opaques et pigmentées en jaune-doré; elles sont entourées d'un halo jaune correspondant à une acidification à partir du mannitol (mannitol +) et *S. epidermidis* donne des colonies blanches (mannitol -).
Pour le dénombrement on sélectionne les boîtes contiennent entre 1 et 100 colonies.

- **Etude biochimique des *staphylococcus aureus* :**

Pour s'assurer qu'il s'agit bien des *staphylococcus aureus*, 2 ou 3 colonies sont soumises à des tests biochimiques :

a) Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme qui permet la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit par la souche lors du phénomène respiratoire.



Le Test de la catalase permet de distinguer les *Staphylococcus aureus* (+) des *Streptocoques* catalase (-).

❖ **Technique utilisée :**

Sur une lame de verre propre, déposer une goutte de H₂O₂ à 10 volumes, et prélever avec une pipette pasteur boutonnée quelques colonies isolées puis les mettre en contact.

- Si des bulles se forment, la bactérie possède la catalase.
- Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme.

b) Recherche de l'activité coagulase :

Parmi les coques Gram+, catalase+, seuls les *Staphylococcus aureus* possèdent l'enzyme coagulase (coagulation de plasma oxalaté de lapin en moins de 24 h), par la transformation de fibrinogène soluble en fibrine insoluble.

La production de coagulase permet de différencier *S. aureus* de *S. epidermidis* et des *Micrococcus*.

❖ Technique utilisée :

Après incubation sur Chapman à 37°C pendant 24h, on prélève quelques colonies, et on les immerge dans un bouillon B.H.I.B (bouillon cœur cerveau) dans lequel le staphylocoque excrètera la coagulase et les incubent pendant 24h à 37°C.

On prélève ensuite 0,5ml de la culture bactérienne et on ajoute 0,5 ml de plasma de lapin dans un tube à EDTA. Le tube est incubé à 37°C et observé toutes les heures.

• Lecture :

La coagulase déclenche la conversion du fibrinogène du plasma de lapin en fibrine qui forme le caillot, ce qui prouve que le staphylocoque est un *staphylocoque aureus* au point que le tube peut être renversé.

Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* :

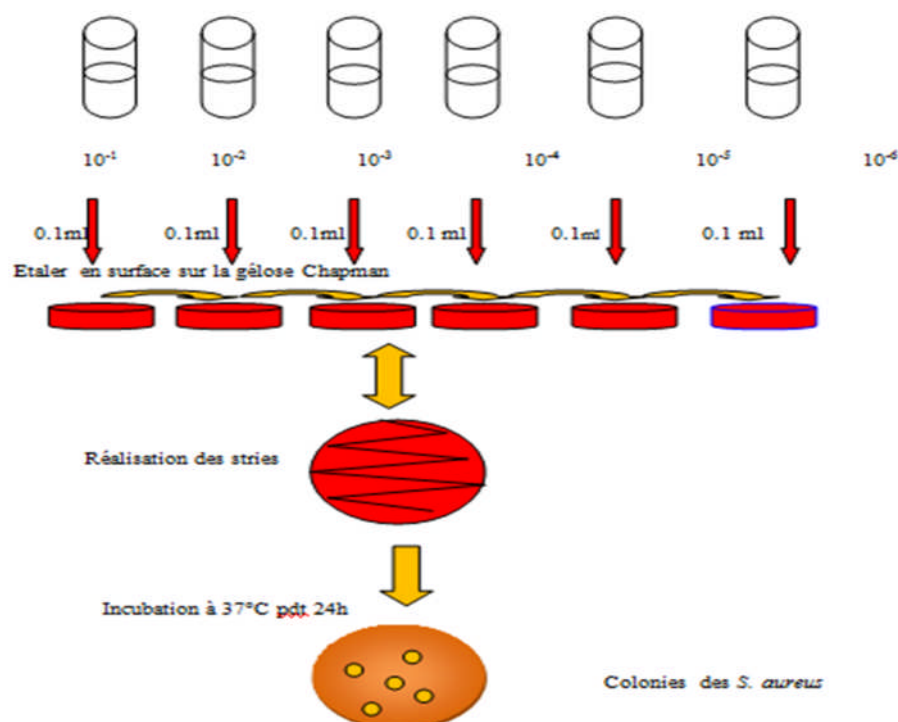


Figure 07 : Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

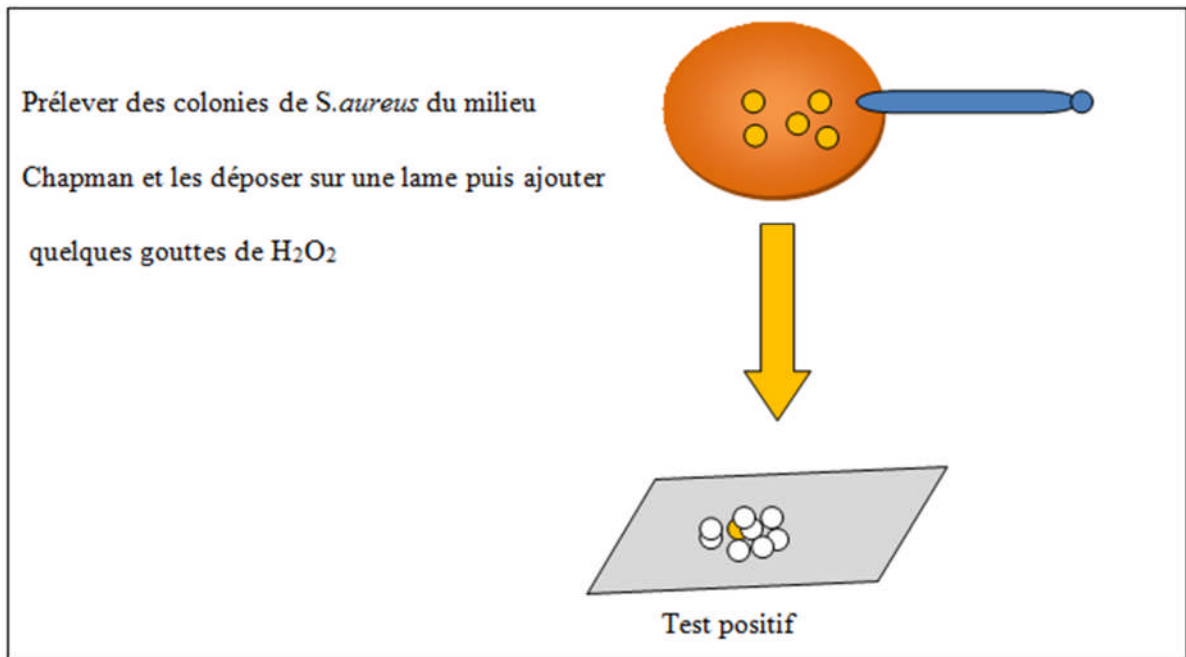


Figure 08 : réalisation de test de la catalase

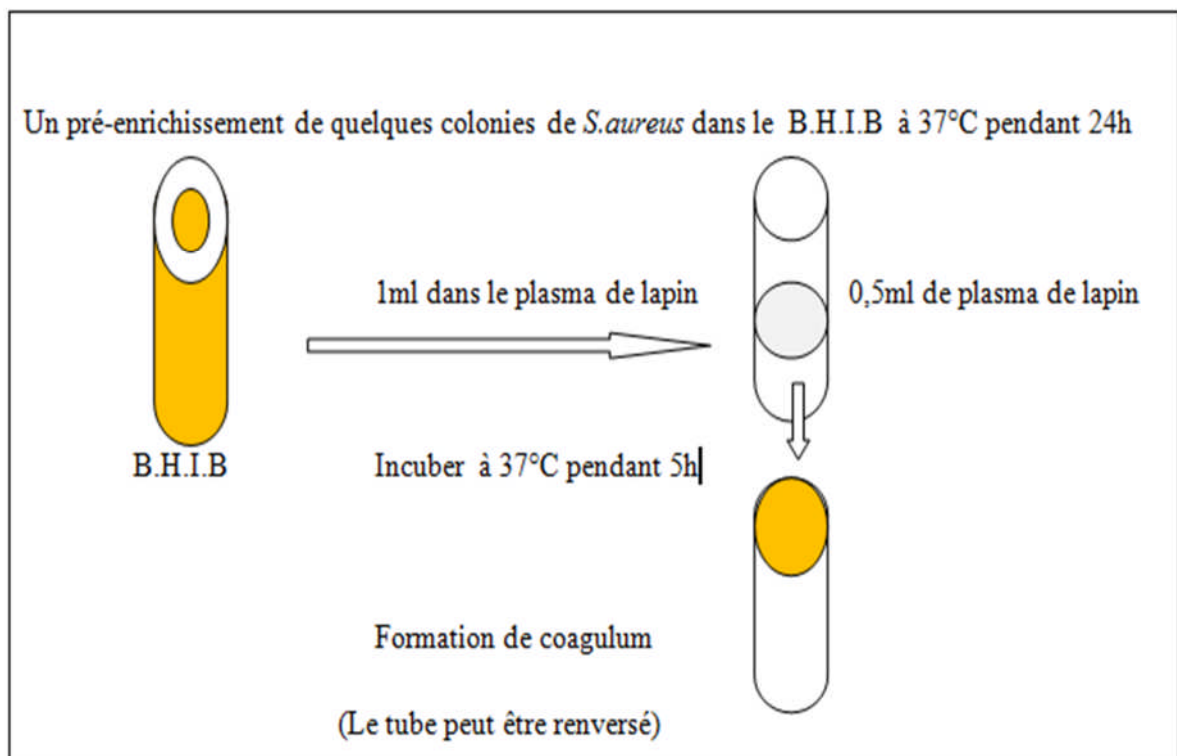


Figure 09 : Test de la coagulase

8. Questionnaire d'enquête :

Les conditions de la stabulation et de la traite jouent un rôle déterminant dans l'apparition des mammites dans les élevages bovins laitiers, pour mieux comprendre l'impact de ces conditions sur les mammites. Nous avons jugé nécessaire d'utiliser un questionnaire destiné aux éleveurs qui servira d'appui dans l'interprétation des résultats de CMT, du CCS et résultats d'analyses bactériologiques (voir l'annexe IX).

9. Analyse statistique :

L'analyse statistique sera appréhendée par l'estimation des résultats moyens obtenus, accompagnée par des paramètres de dispersions (Ecart type, coefficient de variation et intervalle de confiance), permettant d'apprécier la variabilité de ces derniers (DAGNELIE ,1992).

L'identification des fermes aux grands nombres de vaches atteintes et/ou plus grands taux de présence des trois germe considérées se fera d'une part par les comparaisons 2 à 2 des nombres de vaches infectées (test de comparaison de proportions) (MURRAY,1981; TOWASSONE,1983).et d'autre part par l'analyse de la Variance (Modèle en blocs) suivie de la détermination de groupes homogènes de ferme(Méthode de la PPDS de Student) et l'identification de celle les plus atteintes (le test de Gupta –Sobel), en vue de prise de décisions pour y remédier.

Enfin l'estimation des erreurs relatives aux résultats moyens obtenus, permet d'apprécier la précision de l'expérimentation et la conformité de la taille de l'échantillon utilisé.

*Chapitre V:
Résultats et
Discussion*

1. Evaluation des conditions d'élevage et des conditions de traite au niveau des fermes :

- **Description de l'environnement d'élevage:**

La qualité du lait est étroitement liée aux conditions sanitaires, et le sanitaire est lié aussi au bâtiment et à son hygiène. Ainsi, les conditions d'ambiance d'une stabulation pour bovins ont des incidences directes sur la santé de ceux-ci.

Au cours de notre étude, on a remarqué que les animaux sont attachés (stabulation entravé), les veaux sont séparés de leurs mères et les bâtiments étaient dans des conditions d'hygiène défectueuses, avec une absence d'aération et un sol mal nettoyé et très humide.

- **Description des conditions de la traite**

A chaque traite, l'éleveur prépare ses vaches en effectuant une légère désinfection de la mamelle, un nettoyage du matériel avec l'eau. Avant de placer la machine, les trayons sont mal nettoyés car les éleveurs utilisent une lavette collective et le plus souvent avec de l'eau froide mise dans un bidon sale.

La traite des vaches atteintes d'une mammite subcliniques sont réalisée en même temps que les vaches saines ce qui contribue à augmenter le taux d'infection des quartiers.

2. Appréciation de l'état sanitaire mammaire par le test CMT

Le test CMT, utilisé depuis longtemps dans plusieurs pays, reste la meilleure technique indirecte réalisable chez les vaches laitières pour détecter les mammites sub-cliniques. Il donne une idée sur l'état d'infection de chaque quartier de la mamelle (saine ou infectée) (M'SADAK et al 2014).

Au total 50 vaches ont fait l'objet de cette étude, soit un total de 200 quartiers. Huit quartiers ne sont pas fonctionnels et les 192 quartiers fonctionnels qui restent ont fait l'objectif d'un dépistage par le test CMT (**figures 11,12**).

2.1. Résultat du test CMT selon la position des quartiers :

Les résultats de ce test nous ont permis de reconnaître les quartiers infectés selon leurs positions (**Tableau 06**).

Tableau 06: Résultats du CMT selon la position des quartiers :

Fermes	Position des quartiers infectés				Nombre de quartiers infectés par fermes
	Quartiers droits		Quartiers gauches		
	AD	PD	AG	PG	
F1	01	01	01	00	03
F2	01	01	00	00	02
F3	01	00	00	01	02
F4	01	00	02	01	04
F5	01	02	02	03	08
F6	01	01	00	00	02
TOTAL	11		10		21

Les quartiers droits sont les plus touchés par la mammite sub-clinique avec un pourcentage de 52,38% contre 47,62% pour les quartiers gauches (**figure 09**).

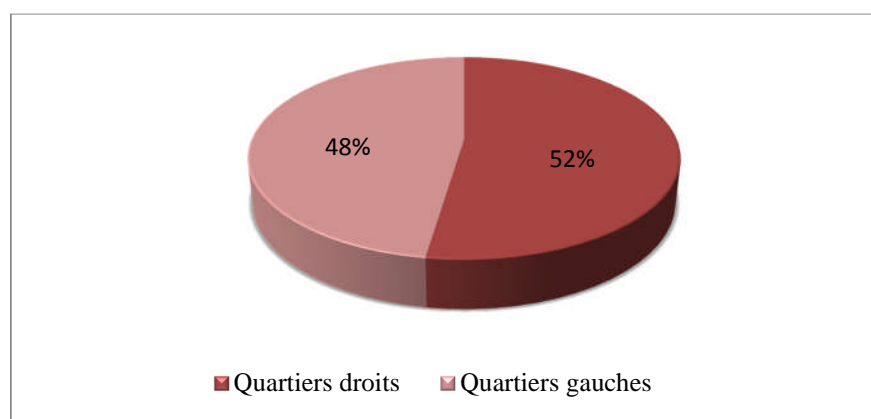


Figure 10 : Résultat des pourcentages des quartiers infectés selon la position

Nos résultats obtenus rejoignent ceux de (M'SADAK et al 2014), qui ont annoncé que les quartiers droits sont plus touchés par les mammites (scores 3) que les quartiers gauches avec des pourcentages respectivement de 12,1% contre 8,1 %.

Ce résultat pourrait être expliqué par le fait que les quartiers droits sont toujours en contact avec la litière, généralement, souillés par les excréments des animaux lors de stabulation entravée (SERIEYS, 1995).

2.2 Le pourcentage des quartiers infectés :

Les résultats du test CMT ont dévoilé que 11 % des quartiers sont infectés (score CMT:3) , alors que 89% des quartiers sont considérés comme non infectés (score CMT: entre 0 et 2) (**Figure 10**).

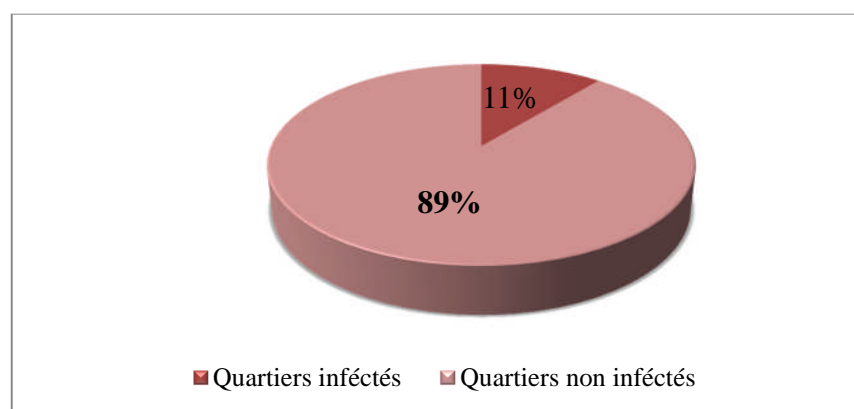


Figure 11 : Résultat des pourcentages des quartiers testés.

Ces résultats sont très proches de ceux rapportés dans l'étude réalisée en Tunisie : M'SADAK et al (2014) dans la région de Mahdia, qui ont mentionné un taux de quartiers infectés (score 3) de l'ordre de 10,3 % sur 2042 quartiers testés. Et celle rapportée par BOUAZIZ (2005) dans l'étude réalisée à l'Est algérien, qui est de 10,7% sur 464 quartiers testés.

Cette situation inquiétante peut s'expliquer par la méconnaissance et le faible intérêt qu'accordent les éleveurs aux conditions hygiéniques. En effet, sur l'ensemble des fermes visitées, les conditions d'hygiène du bâtiment ont été mauvaises et la traite s'effectue dans des conditions sales avec une absence d'utilisation de désinfection pour la préparation de la mamelle et pour le nettoyage du matériel. De plus, certaines pratiques telles que le mauvais nettoyage des trayons qui se fait, soit à l'aide de main nue, soit avec une lavette collective le plus souvent avec de l'eau froide mise dans un bidon sale ont été constatées. La traite des vaches mammitesuses en même temps que les vaches saines contribue à augmenter le taux d'infection des quartiers.

3. La prévalence des mammites sub-cliniques chez les vaches :

Les pourcentages de vaches présentant une mammite sub-clinique au niveau de chaque ferme sont présentés dans le tableau (07)

Tableau 07 : Prévalence des mammites sub-cliniques chez les vaches laitières

Fermes	Nombre de vaches testés	Nombre de cas de mammites sub-cliniques	% de vaches avec mammites sub-cliniques
F1	08	03	37.5
F2	06	02	33.33
F3	05	02	40
F4	12	04	33.33
F5	14	06	42.45
F6	05	02	40
Total	50	19	37.83

- Le taux moyen de vaches atteintes est de $37,83 \pm 3,77$, avec un taux maximal observé de 42,45% au niveau de la ferme 5.

-Le coefficient de variation estimé à 9,96% ne dépassant pas le seuil biologiquement admis (30%) indique que la variabilité des résultats reste acceptable.

-Dans 95% de cas, ce pourcentage moyen serait de $37,83\% \pm 0,72$.

La prévalence des vaches atteintes de mammites sub-cliniques dans l'Est algérien était de 73,6% BOUAZIZ (2005), dans la wilaya de Batna été de 70% Helaili (2002), à Constantine été de 62 % BENMOUNAH (2002) alors que dans la wilaya de Tiaret été de 57% NIAR et al (2000).

Dans les autres études la fréquence des mammites sub-cliniques était de 62% en Ethiopie (DEGO et TAREKE, 2003), 52% en Uruguay (GIANNEECHINI et al, 2002), et 50% au Maroc (HILALI, 2003).

Les données relatives à la prévalence des mammites sub-cliniques varient d'une étude à une autre. Cette variation pourrait être attribuée à l'utilisation de différentes méthodes de diagnostic des mammites sub-cliniques (examen bactériologique, test de la concentration

cellulaire somatique, CMT) et à la définition de l'infection qui est variable selon les auteurs (EBERHART, 1986).

-Les écarts réduits ont été estimés entre les différents pourcentages présentant les vaches atteintes dans chaque ferme. Ces derniers sont inférieurs à 1,96 (seuil minimal de différence statistiquement admis), tableau 08 :

Tableau 08 : les résultats des écarts réduits :

Pourcentages	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅
P 2	0,07				
P 3	0,04	0,09			
P 4	0,08	00	0,12		
P 5	0,11	0,18	0,05	0,22	
P 6	0,04	0,01	00	0,12	0,05

Il ressort donc que les fermes ne présentent pas de différences significatives au niveau des prévalences de la mammite sub-clinique.



Figure 12: Résultat négatif du Test CMT
(photo personnel 2016)



Figure 13 : Résultat positif du Test CMT
(photo personnel 2016)

4. Résultats du comptage cellulaire :

Le comptage cellulaire constitue la base de la gestion de la mammite dans les exploitations laitières depuis de nombreuses années et représentent un outil de valeur inestimable. Les résultats du comptage des cellules somatiques sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 09 : Concentration cellulaire par ferme.

N° Fermes	Nombre de cellules somatiques/cm ³ de lait
01	>1 500 000/cm ³
02	>1 500 000 /cm ³
03	>1 500 000 /cm ³
04	>1 500 000 /cm ³
05	>1 500 000 /cm ³
06	>1 500 000 /cm ³

Ces résultats ne sont pas conformes aux normes décrites par la réglementation européenne n° 853/2004 article IV car ils sont supérieurs à 400 000 cellules par ml.

Nos résultats sont proches de ceux rapportés dans l'étude réalisée au Cameroun : GAMBO et AGNEM (2001) dans les exploitations bovines laitières de la Vina, qui est de 1 240 000 cellules/ cm³ dans 37 exploitations.

Mais ces résultats sont de loin supérieurs à ceux rapportées par MTAALLAH et *al* (2002) qui étaient de 626 000 cellule/cm³ pour 21 troupeaux de vaches laitières.

La valeur élevée de la numération cellulaire que nous avons trouvée ne peut s'expliquer que par un niveau plus élevé d'infection mammaire de nos élevages par rapport aux deux précédents.

Le diagnostic sanitaire mammaire direct par le dénombrement cellulaire a permis de dégager principalement une élévation des taux cellulaires observés indiquant la présence des cas de mammites sub-cliniques dont l'impact sur les productions quantitative et qualitative du lait n'est pas à négliger.

5. Résultats de dénombrement de la Flore Mésophile Totale (FMAT) :

Les échantillons prélevés présentent une charge en microorganismes de la flore totale qui varie de 10.10^6 à 18.10^6 ufc/ml, pour une moyenne de $14.10^6 \pm 3,22.10^6$ ufc/ml.

La valeur minimale a été enregistrée au niveau de la ferme (F6) avec une charge de l'ordre de 10.10^6 ufc/ml, tandis que la maximale est enregistrée au niveau de la ferme (F5) avec une valeur de 18.10^6 ufc/ml (**figure 13**).

Le coefficient de variation estimé à 23 % ne dépassant pas le seuil biologiquement admis (30%) indique que la variabilité des résultats reste acceptable.

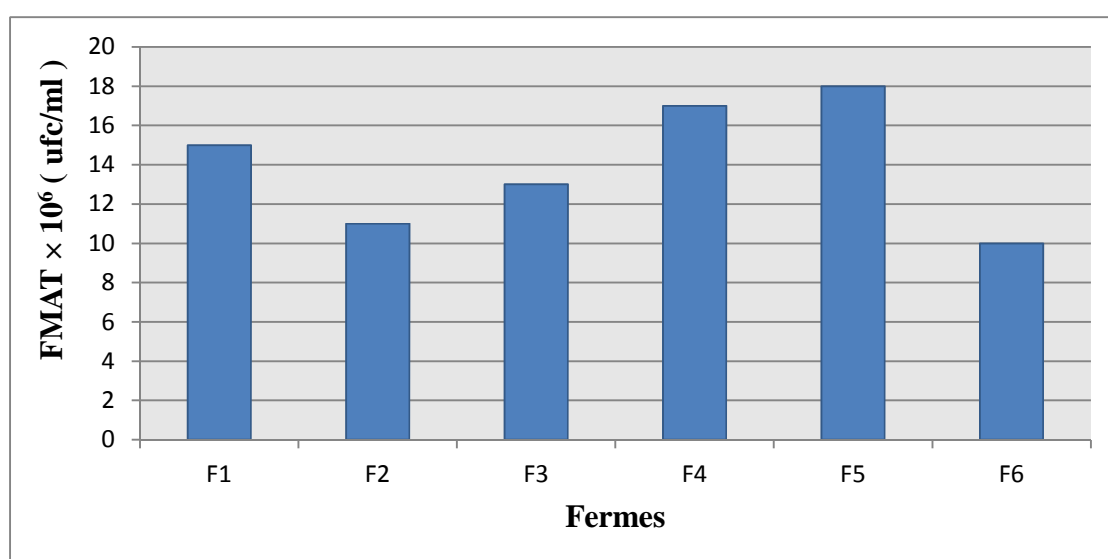


Figure 14: Résultats de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FAMT) dans les laits crus à travers les fermes laitières (ufc/ml).

La flore mésophile aérobie totale renseigne sur la qualité hygiénique globale du lait cru. Celle-ci renferme les microorganismes d'altération ou de contamination, la flore lactique acidifiante et parfois les bactéries pathogènes. Le dénombrement de cette flore constitue la méthode la plus commune pour les unités de transformation du lait, pour évaluer la qualité bactérienne du lait acheté et par conséquent, elle représente un indicateur important des conditions d'hygiène lors de la traite (MHONE et *al*, 2011).

Tous les échantillons du lait analysés expriment une charge en FMAT supérieure à celle fixée par le J.O.R.A (supérieure à 10^5).

Nos résultats obtenus rejoignent ceux rapportés par (LABIOUI *et al*, 2009) qui signalent que tous les échantillons analysés présentent une charge en FMAT supérieurs à 10^6 et rejoignent également ceux rapportés par GHAZI et NIAR (2011) et (HAMIROUNE *et al*, 2014) qui signalent une charge en FMAT nettement supérieure à 10^5 ufc/ml.

Nos résultats sont très supérieurs à ceux rapportés par l'étude qui à étaient faite à la wilaya de Ghardaïa par (DEBOUZ *et al*, 2014) qui signalent une charge en FMAT de 29.10^2 UFC/ml). Et sont aussi supérieurs à ceux annoncés par (AGGAD *et al*, 2009) dans l'ouest algérien avec une moyenne de 83.10^4 ufc/ml.

Le faible nombre de germes totaux est le résultat du bon état de santé, des propriétés intrinsèques et de la très bonne position anatomique naturelle de la mamelle. Cette situation est très inquiétante comparativement à celle rapportée à New York par (Boor *et al*, 1998) et en Bretagne par RAYNAUT (2005) où seulement 5% et 2% respectivement des laits des élevages comportaient une flore supérieure à 10^5 UFC/ml, en relation probable avec des conditions d'hygiène rigoureuses.

Cette forte charge en FMAT observée au niveau des échantillons du lait est, probablement, le résultat d'une multiplication microbienne intense, due à la présence de mammites sub-cliniques qui est favorisée par la non maîtrise des conditions d'hygiène ce qui crée un environnement sale à l'intérieur des fermes ainsi que la non maîtrise des conditions de traite (BONFOH *et al*, 2003).

6. Résultats de dénombrement des coliformes Fécaux (CF) :

Les résultats des dénombrements des Coliformes Fécaux montrent que sur les 6 échantillons analysés, 5 d'entre eux sont contaminés soit un taux de 83% .

Les dénombrements de ces germes présentent des résultats qui varient entre l'absence du germe et 310.10^3 ufc/ml comme valeur maximale, pour une moyenne de $95.10^3 \pm 137.10^3$ ufc/ml (**Figure 14**). La valeur minimale (absence du germe) a été enregistré au niveau de la ferme (F6), tandis que la maximale est enregistrée au niveau de la ferme (F4) avec une valeur de 310.10^3 ufc/ml.

Le coefficient de variation estimé à 144% indique une très grande variabilité dans les nombres de Coliformes Fécaux.

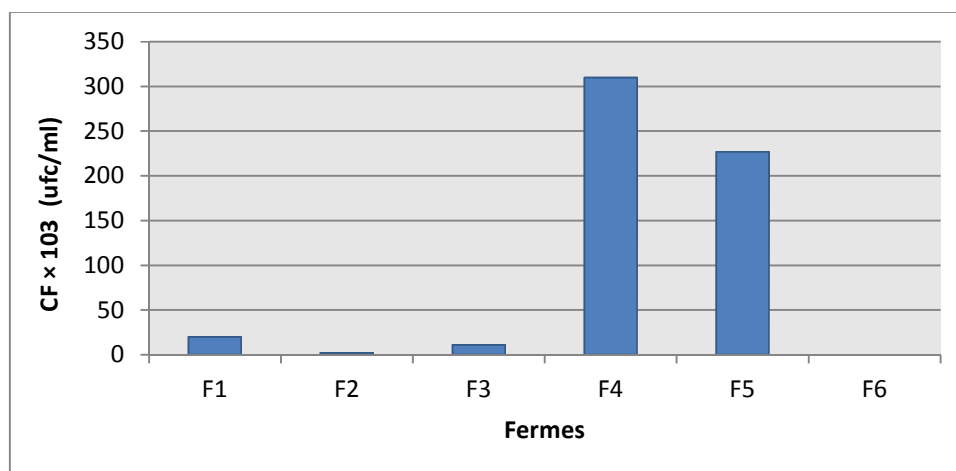


Figure 15: Résultats de dénombrement des Coliformes Fécaux dans les laits crus à travers les fermes laitières.

Les analyses du lait cru ont révélés que 83 % des échantillons expriment une charge en CF supérieur à celle fixée par le J.O.R.A (supérieur à 10^3).

Nos résultats retrouvés sont proches de ceux annoncés par (LABIOUI *et al*, 2009) qui signalent une moyenne de $5,2 \cdot 10^3$ et ceux annoncés par (HAMIROUN *et al*, 2014) qui signalent une moyenne de $46 \cdot 10^3$.

La contamination des échantillons du lait en CF se retrouve plus élevée que celle rapportés par AGGAD *et al* (2003) et GHAZI *et al* (2010) qui ont annoncé des charges moyennes en CF inférieures à 10^2 ufc/ml.

La présence de coliformes dans les produits d'origine animale indique une source environnementale de contamination. Les principaux vecteurs sont fortuitement liés aux téguments de la peau du trayon, souillé par les fèces et le matériel de traite mal conçu et mal nettoyé (MHONE *et al*, 2011).

En outre, la saison joue un rôle important dans l'apparition des mammites car un auteur a rapporté dans son étude que la mise en herbe des animaux au printemps augmente le risque d'induire des mammites. Le fourrage vert peut être à l'origine des troubles digestifs (des diarrhées) dont la mamelle est prédisposée aux infections.

7. Résultats de dénombrement des *Staphylococcus aureus* :

Les résultats obtenus lors du dénombrement des *S.aureus* présentent une moyenne de $29,5.10^2 \pm 47,55.10^2$ ufc/ml.

La valeur minimale a été enregistrée au niveau de deux fermes (F2 et F6) avec une charge de l'ordre de 4.10^2 ufc/ml, tandis que la maximale est enregistrée au niveau de la ferme (F4) avec une valeur de 125.10^2 ufc/ml (**figure 16**).

Le coefficient de variation estimé à 161% indique une très grande variabilité dans les nombres de *Staphylococcus aureus*.

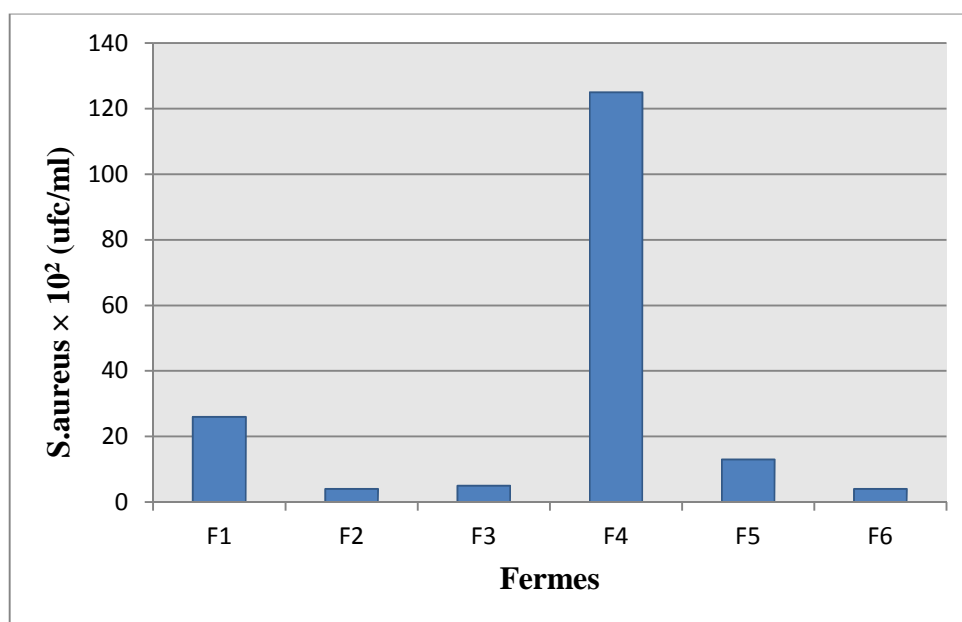


Figure 16: Résultats des dénombrements des *Staphylococcus aureus* dans des laits crus à travers les fermes laitières.

Tous les échantillons analysés présentent une charge en *S.aureus* supérieur à la norme fixée par le J.O.R.A qui est l'absence du germe.

Nos résultats sont proches de ceux rapportés par (AGGAD et al, 2009) avec une moyenne de 35.10^2 ufc/ml et ceux rapportés par (HAMIROUNE et al, 2014) avec une moyenne de 9.10^3 , mais restent largement inférieurs à ceux obtenus par (MENNANE et al, 2007) au Maroc avec une moyenne de $1,2.10^6$ ufc/ml.

Selon DODD et BOOTH (2000), le *Staphylococcus aureus* est considéré comme une bactérie pathogène majeure, causant des infections mammaires, ces dernières s'accompagnent

d'une augmentation de la perméabilité entre le compartiment sanguin et le lait qui a pour conséquence des modifications de la composition du lait.

Les principales sources de contamination sont, en premier lieu la mamelle. Les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait à la production, d'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que la machine à traire, elle peut en effet infecter 6 vaches qui suivent la traite d'une vache infectée, et enfin l'homme (THIEULON, 2005).

FOURICHON et al.,(1998) cités par BOUAZIZ (2005) montrent que le nettoyage incomplet de la machine à traire permet la survie des agents pathogènes dans les gobelets trayeurs qui contamineraient le trayon en début de traite.

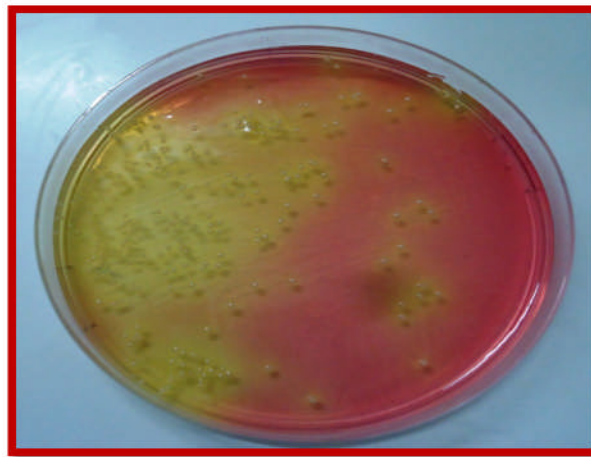


Figure 17: Les *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman (photo personnel 2016)

-Les nombres de germes attendus dans 95% de cas seraient respectivement de $14.10^6 \pm 3,38.10^6$, de $95.10^3 \pm 143.10^3$, et de $29,5.10^2 \pm 49,89.10^2$ pour les FMAT, les CF et les *S.aureus*.

-Les erreurs relatives aux nombres de germes moyens dénombrés, estimées à 24,13 % pour les FMAT, à 151% pour les Coliformes Fécaux et à 168 % pour les *Staphylococcus aureus*, dépassent 12 % (seuil maximal admis) ce qui pourrait être expliqué par les grandes variabilités constatées et/ou l'insuffisance des tailles des échantillons utilisés.

Ceci est un indicateur de la fiabilité des résultats concernant les FMAT, alors que les très grandes variabilités pour les 2 autres types de germes en excluant toute conclusion définitive.

8. Fréquence des germes isolés en fonction de leur réservoir :

La figure (18) montre la fréquence des germes isolés en fonction de leur réservoir. Les germes de réservoir mammaire (*Staphylococcus aureus*) sont isolés à un taux de 3%. La fréquence des germes d'environnement (Coliformes Fécaux) s'élève à 97%.

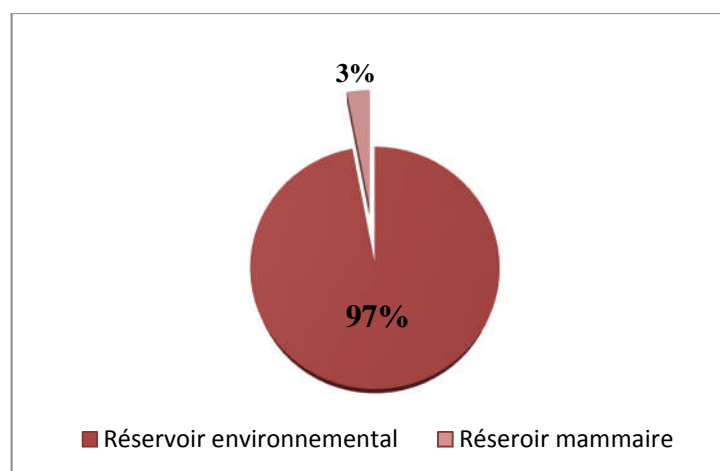


Figure 18: Fréquence des germes isolés en fonction de leur réservoir.

Nos résultats obtenus ne rejoignent pas ceux retrouvés par BOUAZIZ (2005) dans l'Est Algérien qui montrent une prédominance des germes à réservoir mammaire (80%) par rapport aux germes d'environnement (20%).

Cela pourra être expliqué par le fait que notre étude a été réalisée au printemps et pendant cette saison et après la mise en herbe des bovins, l'herbe jeune est à l'origine des troubles digestifs (apparition des diarrhées) qui favorisent l'augmentation de la charge bactérienne dans l'environnement.

9. Analyse de la Variance des nombres de germes : (Modèle en blocs)

Tableau 10: Analyse de la Variance

Source de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	Fth
-Facteur Germes	02	778,47.10 ⁶	389,24.10 ⁶	28,43	3,38
-Variation blocs (fermes)	15	205,33.10 ⁶	13,69.10 ⁶		6,36
-Variation résiduelle					11,3
Variations totales	17	983,80.10 ⁶			

L'analyse montre des différences très hautement significatives entre les 3 types de Flores. (F_{obs} égale à 28,43 > à 3,68, à 6,36 et à 11,3, valeurs correspondant à des risques d'erreurs $\alpha_1 = 0,05$, $\alpha_2 = 0,01$ et $\alpha_3 = 0,001$.)

Il en ressort que la présence des 3 types de flore dans les fermes étudiées serait très différente, ce qui justifierait l'orientation de la lutte vers le(s) type(s) de germes(s) le(s) plus fréquent(s).

10-Identification des groupes homogènes parmi les 3 flores :

Les résultats du test de comparaison des moyennes 2 à 2 (méthode de la PPDS de Student) montrent, que dans 95 % de cas, le nombre de germes (FMAT) est différent des 2 autres types de germes qui eux sont très proches.

Les différences respectives des FMAT aux Coliformes et aux *Staphylococcus aureus*, égale à 83,77.10⁶ et 83,99.10⁶ sont supérieures à la PPDS de Student estimée à 4,56.10⁶ germes, alors que la différence entre les Coliformes et les *Staphylococcus aureus* n'est que de 0,22.10⁶ inférieure à cette PPDS ce qui indique que les nombres de ces germes sont très proches.

Ceci imposerait deux traitements spécifiques de part la nature, la dose et le mode ; l'un pour les FMAT et l'autre pour les 2 flores restantes.

11-Identification du type de germe le plus fréquent :

Les résultats du test de Gupta-Sobel montrent que seuls les FMAT pourraient être considérés dominants. (Nombre de germes moyen 14.10^6 ufc/ml est supérieur à max – Q avec Q estimé à 7,82.)

12- Relation entre le nombre de vaches total et le nombre de vaches atteintes :

Le coefficient de corrélation (**r**) évalué à 0,97 indique qu'il y a forte synergie entre l'effectif de vaches dans la ferme et le nombre de vaches atteintes (**-r** proche de + 1), indiquant que la présence de mammite pourrait être expliquée pour 94% par l'effectif de la ferme en vaches.

13. Relation entre le nombre de vaches atteintes et le nombre total de germes :

La corrélation, estimée à $r = 0,67$ montre qu'il y a synergie entre l'évolution du nombre de vaches atteintes et la prolifération des germes totaux, indicatrice de l'intervention du nombre de vaches atteintes dans la prolifération des germes, avec un degré de 44,89 %

Conclusion

Générale

Conclusion générale

A travers cette étude, nous avons évalué le degré de contamination de la matière première, le lait cru issu de vache atteintes d'une mammites sub-clinique. Cela nous a permis d'estimer la prévalence des mammites sub-cliniques, d'identifier la nature et d'évaluer l'importance des différentes espèces bactériennes responsables des infections mammaires ainsi que la description des facteurs de risque des mammites sub-cliniques. Elle a mis en évidence les principaux points suivants :

- Une prévalence élevée (37,83%) de mammites sub-cliniques pour un score 3 de CMT.
- Les germes responsables de mammites sub-cliniques sont principalement des bactéries pathogènes majeures à réservoir environnemental : Coliformes Fécaux (97%) et une fréquence non négligeable (3%) de bactéries pathogènes à réservoir mammaire ont été isolées : *Staphylococcus aureus*.
- Au vu des normes algériennes (JORA, 1998), la qualité hygiénique de tous les échantillons analysés, est mauvaise. Les laits sont fortement pollués, révélant des pratiques d'hygiène douteuse.
- Les mauvaises conditions d'hygiène de la traite, le non contrôle de la machine à traire et le mauvais entretien de l'habitat a constitué les probables facteurs de risque en raison de l'isolement d'un taux élevé de coliformes fécaux et de *Staphylococcus aureus*.
- L'emploi de différents outils de diagnostic (Examen clinique, CMT, CCS, et l'analyse bactériologique) nous ont permis de comparer et valider nos résultats de diagnostic de l'infection.

Sur le plan statistique, les variabilités entre fermes et types de flores ne permettent pas l'application des résultats obtenus, car dépassant pour la plupart des cas les seuils biologiquement admis.

Les erreurs estimées dénotent également l'imprécision de l'expérimentation et l'insuffisance de la taille des échantillons utilisés.

Afin d'améliorer la qualité du lait cru de vache, il est désirable d'établir des normes de contrôle des pratiques d'hygiène dans les fermes laitières, car la mise en place de ce système diminuera la prévalence des mammites bovines et augmente la qualité et le taux de la production du lait cru de vache dans les exploitations laitières.

Recommandations et Perspectives:

A l'issu de cette étude, pour améliorer la qualité et la quantité du lait produit localement et garantir ainsi la santé des consommateurs, plusieurs règles et mesure doivent être appliquées.

- Le contrôle des mammites dans un élevage est beaucoup mieux accompli par « **la prévention** » que par le traitement. En général, les infections existantes persistent même lorsqu'elles sont traitées.
- La lutte contre les mammites doit être un effort continu qui porte ces fruits à long terme, parce qu'il est pratiquement impossible d'empêcher la transmission des microorganismes qui provoque la maladie.

Le but de la prévention est de diminuer le taux de nouvelles infections et la durée des infections existantes. Pour obtenir un déclin rapide du niveau d'infection dans un élevage, il faut :

- ✓ Sensibiliser l'éleveur pour minimiser ce fléau pour une bonne rentabilité et une bonne gestion ;
- ✓ Un dépistage précoce des mammites sub-clinique par l'utilisation du test CMT ;
- ✓ Utilisation des détergents et désinfectant lors des opérations de lavage et de nettoyage du matériel impliqué dans la traite ;
- ✓ La traite doit s'effectuer dans des conditions d'hygiène et ceci en utilisant des lavettes individuelles lors de la préparation de la mamelle et en faisant recours aux produits homologués ;
- ✓ Isoler les vaches atteintes.
- ✓ Traire les vaches infectées les dernières ;
- ✓ Traiter les vaches infectées au tarissement ;
- ✓ Alimenter les vache tout de suite après la traite pour qu'elles restent debout (au lieu de se coucher) ;
- ✓ Respecter des bonnes pratiques vétérinaires, telles que les mesures d'hygiène, la vaccination et la sélection des élevages indemnes de certaines bactéries, de façon à rechercher la moindre utilisation des antibiotiques.

Enfin, on peut dire que le thème de notre projet mérite d'être étudié à l'échelle nationale afin de mieux informer l'éleveur et le sensibiliser pour contribuer à une bonne gestion.

Références
Bibliographiques

A

- **ABOUTAYEB R. (2009).** Technologie du lait et dérivés laitiers : // www.azaquar.com.
- **AGGAD H., MAHOUZ F., AHMED AMMAR Y., et KIHAL M., 2009 .** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien, Méd. Vét, Faculté des sciences agronomiques et vétérinaires, Département des sciences vétérinaires, Université de Tiaret, Algérie, pp 591-593.
- **ALAIS C., LINDEN G. et MICLO L.(2008).** Biochimie alimentaire, Dunod ^{6eme} édition. Paris. pp : 86-88
- **AMIOT J., FOURNER S., LEBEUF Y., PAQUIN P., SIMPSON R. et TURGEIN H. (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et technique d'analyse du lait In VIGNOL C.L., Science et technologie du lait- Transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, ISBN : 3-25-29(600 pages).

B

- **BENMOUNAH B., 2002 .** Prévalence étiologique des mammites subcliniques dans la wilaya de Constantine. Thèse de Magister, Université Mentouri Constantine : 94 p
- **BEUVIER E et FEUTY F. (2005).** Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage. European Journal of Science Research (3) ,125-142.
- **BILLON P, MENARD JL, BERNY et GAUDIN V. 2001.** La détection des mammites par la mesure de conductivité électrique du lait. *Bull. GTV*, **12** : 35-39.
- **BONFOH B., WASEM A., TRAORE A N., FANE A., SPILLMAN H., SIMBE C F., ALFAROUKH I O., NICOLET J., FARAH Z. et ZINSSTAG J. (2003).**
« Microbiological quality of cow's milk taken at different intervals from the udder to the selling point in Bamako, Mali » *Food Control* 14, p. 495-500.
- **BOOR K.J., BROWN D.P., MURPHY S.C., KOSLOWSKI S.M. & BANDLAR D.K., 1998.** Microbiological and chemical band quality of raw milk in New York State. *J. Dairy Sci.* 81, pp 1743-1748.

- **BOUAZIZ O., 2005** : Contribution à l'étude des infections intramammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien. Thèse de Doctorat, Université mentouri de Constantine, faculté des sciences, département des sciences vétérinaires, Algérie, 135p.
- **BOUDIER J.F. et LUQUET F.M. (1981)**. Dictionnaire laitier. 2^{ème} Ed. Technique et Documentaire, Paris.
- **BOUZIANI A. (2009)**. La lettre ALGEX. Lettre bimensuelle n°18.pp :1-2. <http://www.algex.dz/content.php?artID=1384&op=51>
- **BYLUND GOSTA, 2000**. handbook-of-dairy-processing . Editor: Teknotext AB
lustrations: Origrit AB .pp 20-45,60-75,87-120s.

C

- **CHEFTEL J C et CHEFTEL H. (1996)**. « Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments, Technique et Documentation, Lavoisier, Paris ».
- **CHEY FY., ABDULLAH A et AYOB MK.(2004)**. Bactériological quality and safety of raw milk in Malaysia. Food Microbiology 21,535-54.
- **CROUGHENEC T., JEANTET R et BRULE G. (2008)**. « Fondements physicochimiques de la technologie laitière ».Tec & Doc. Lavoisier, Paris.

D

- **DAGNELIE P., 1992**. statistiques théoriques et appliquées : les bases théoriques, TOME 1, Presses agronomiques de Gembloux-Belgique, 436 p.
- **DEBOUZ A., GUERGUER L., HAMID OUDJANA A., et HADJ SEYD AEK., 2014** : Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de vache et du lait camelin dans la wilaya de Ghardaïa, El Wahat pour les recherches et les Etudes, Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre Département de Biologie, Algérie 15 P.
- **DEBREIL, E. 2008**. Les Analyses Bactériologiques du lait des infections Mammaires bovines applicables au cabinet vétérinaire en pratique courante et leurs intérêts dans le traitement des mammites. Thèse. Doc. vêt, Ecole National Vétérinaire d'ALFORT, France, 5.
- **DEGO OK., TAREKE F., 2003** : Bovine mastitis in selected areas of southern Ethiopia. Trop. Anim. Health Prod, pp 197-205
- **DODD FH. et BOOTH J. (2000)**. Mastitis and milk production. Dans the healthy of dairy cattle. Edition Andrews A.H. London. pp: 213-255.

- **DOMINIQUE REMY**, Mammite : hygiène, prévention et environnement, Guide France Agricole, 2010.
- **DOMINIQUE REMY**, Mammite: Hygiène, Prévention et environnement, Guide France Agricole, 2010.
- **DUREL, L., HUGUES, G et LEONARD, T.2011. Mammites bovine, Vade, Mecum. Edition Med' com.270: 18,218.**
- **DUREL, L., HUGUES, G. et léonard, T.2011, Mammites bovine, Vade, Mecum. Edition Med'com.270 :18,218.**

E

- **EBERHART RJ. 1986.** Management of dry cow to reduce mastitis. J. Dairy Sci., 69 : 1721-1732.
- **EBERHART RJ., HARMON DE., JASPER RP., et NATZKE SC., 1987 .** Current concepts of bovine mastitis. 3rd Natl. Mastitis Counc., Inc., Arlington, VA : pp 258-264.

F

- **FAROULT B.** Les mammites sub-cliniques et les mammites cliniques aiguës. Maladies des bovins 3^{ème} Editions France Agricole 2000, 64-75.
- **FAYE B. et LOISEAU G. (2002).** Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, Montpellier, France. pp :11-13.
- **FOURICHON C., BAREILLE N., SEEGER H., BEAUDEAU F. 1998.** Survenue et expression des mammites cliniques et sub-cliniques en troupeau laitier : facteurs de risque liés aux Pratiques de la traite. Ren. Rech. Rut., Paris 2 et 3 décembre, 5, 347.
- **FREDOT E. (2006).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier : 25 (397 pages).

G

- **GAMBO H., AGNEM ETCHIKE C., 2001 .** Dépistage de mammites subcliniques chez des vaches Goudali en lactation au Nord Cameroun, Élev. Méd. Vét, Université de Ngaoundéré, Ngaoundéré, Cameroun, 7p.
- **GHAZI KH., NIAR A., 2011 .** Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret, Articles Originaux, Université Ibn –Khaldoun de Tiaret, Algérie, pp 194-195.

- **GIANNEECHINI R., CONCHA C., RIVERO R., DELUCCI I., MORENO LOPEZ J., 2002.** Occurrence of clinical and subclinical mastitis in dairy herds in the West Littoral Region in Uruguay. Act. Vet. Scand., pp 221-230.
- **GUIRAUD J-P. (2003).** Microbiologie Alimentaire édition Dunod, Paris

H

- **HAMIROUNE M., BERBER A. , BOUBEKEUR S., 2014 .** Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique, Médecine Vétérinaire, École Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV), El Harrach, Alger, Algérie, pp 138-142.
- **HANZEN ,2008 .Propédeutique de la glande mammaire.** Sémiologie et diagnostic individuel et de troupeau. Pp-2-14,19-26.
- **HANZEN, CH. 2010.**Propédeutique de la glande mammaire sérologie et diagnostic individuel et de troupeau. Approche individuelle.
- **HELEILI N.,2002 .** Etude de la mammite sub-clinique et la sensibilité in vitro des germes isolés aux antibiotiques. Thèse de Magister, Université de Batna : 202 p
<http://www.agroligne.com/contenu/silait-2008-1er-salon-international-lait>

I

- **Institut de l'élevage. (1994).** Maladie des bovins. PP 85.98. Edition France Agricole. Journées Nationales GTV-INRA, Nantes : 319-33.

J

- **JEANTTET R., CROGUENNEC T.,MAHAUT M., SCHUCK P et BRULE G.(2008).** Les produits laitiers 2^{ème} édition.Tec & Doc.Lavoisier. Paris

K

- **KIRAT, (2007).**Les conditions d'émergence d'un système d'élevage spécialisé en engraissement et ses conséquences sur la redynamisation de l'exploitation agricole et la filière des viandes rouges bovines - Cas de la Wilaya de Jijel en Algérie. Montpellier (France): CIHEAM-IAMM.13p.

L

- **LABIOUI H., ELMOUALDI L., BENZAKOUR A, EL YACHIOUI M., BERNY E., MOHAMMED OUHSSINE M., 2009.** Etude physicochimique et microbiologique de laits crus, Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Qualité, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail , Maroc, pp 12-14
- **LAMONTAGNE M., CHAMPAGNE CP., AUSSEUR JR., MOINEAU S., GATDNER N., LAMOUREAUX M., JEAN J et FLISS I. (2002).** « Microbiologie du lait in Science et technologie du lait ». Presse internationale Polytechnique. Ecole polytechnique de Montréal.
- **LARPENT J.P. (1990).** Lait et produits laitiers non fermentés. Dans Microbiologie alimentaire. (Bourgeois C.M., Mescle J.F.et Zucca J.) Tome 1: Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Edition Tec et Doc. Lavoisier. pp : 201-215.
- **LEPAGE P. 2003.** Les moyens de diagnostic des infections mammaires en exploitation. *nationales GTV INRA*, Tours : 157-162.

M

- **M'SADAK Y., HAMED I., HAMDY H., et KRAIEM K., 2014.** Évaluation des Conditions Sanitaires Mammaires et des Pertes Laitières Induites en Élevage Bovin Hors Sol dans le Berceau Laitier de Mahdia, Nature & Technologie, Université de Sousse, Institut Supérieur Agronomique de Chott-Mariem, Tunisie, pp 28-34
- **MENNANE Z., OUHSSINE M., KHEDID K., et ELYACHIOUI M. 2007.** Hygienic quality of raw cow's milk feeding from waste in two regions in Morocco. *Int. J. Agric. Biol*, 46-48
- **MHONE T A ., MATOP G., SAIDI P T., 2011.** Aerobic bacterial, coliforme, Escherichia coli and Staphylococcus aureus counts of raw and processed milk from selected smallholder dairy farms of Zimbabwe. *International Journal of Food Microbiology* . 151,232 – 228, 12
- **MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DU DEVELOPPEMENT RURAL. (2009).** Communication sur le développement de la production laitière.
- **MIRANDA G. ET GRIPON J-C. (1986).** Origin, nature and technological
- **MTAALLAH B., OUBEY Z., HAMMAMI H., 2002 .** Estimation des pertes de production en lait et des facteurs de risque des mammites sub-cliniques à partir des

numérations cellulaires de lait de tank en élevage bovin laitier, Méd. Vét. École Nationale de Médecine Vétérinaire, Tunisie, 253p.

- **MURRAY R., SPIEGEL, 1981** : probabilités et statistiques, cours et problèmes, série schaum, copyright by Mc Graw-Hill-Paris, pp : 270-280.

N

- **NIAR A, GHAZY K, DAHACHE SY., 2000** : Incidence des mammites sur les différents élevages bovins de la wilaya de Tiaret. 4ème Séminaire International de Médecine Vétérinaire Constantine 21-22 novembre 2000.

O

- **OULD MOUSTAPHA A., DEMBA N'EDLAYE A., OULD KORY M.B. (2012).** Etude de la qualité du lait pasteurisé des industries laitières située à Nouakchott (Mauritanie). Catégorie : Science du vivant, Biologie. Science Lid Editions Mersenne : Volume 4, N° 12804. Service de Toxicologie et de Contrôle de Qualité, Institut National de Recherche en Santé Publique.

P

- **POUGHEON S. (2001).** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.
- **POUTREL B. 1986.** L'amélioration de la qualité du lait par la lutte contre les mammites bovines. Médecine et Nutrition, 22 : 318-324.
- **POUTREL B. 2002.** Actualités sur les méthodes de diagnostic des mammites. Journées

R

- **RAY B. (2004).** « Fundamental Food Microbiology » CRC PRESS, London New York Washington.
- **RAYNAUT S., 2005** : Etude sur la contamination du lait par les bactéries coliformes en Bretagne, Rapport final, Institut d'élevage.
- **ROUDAUT H. ET LEFRANCQ E. (2005).** Alimentation théorique. Edition Sciences des Aliments.

S

- **SERIEYS F. 1985a.** Interprétation des concentrations cellulaires du lait individuel de la vache pour le diagnostic de l'état d'infection mammaire. *Ann. Rech. Vet.*, **16** : 263-269.
- **SERIEYS, F, AUCLAIR, J, POUTREL, B .** Influence des infections mammaires sur la composition chimique du lait. In : CEPIL. Le lait matière première de l'industrie laitière. CEPIL – INRA, Paris, 1987, 161-170.
- **SERIEYS F. 1995.** Le point sur les mammites des vaches laitières. ITEB, Paris : 65 p.
- **SERIEYS F., 1995.** - Les mammites des vaches laitières, Collection « Le point sur », 3ème édition, Institut de l'Élevage, Paris, France, pp 5-43.
- **SERIEYS F. 1997.** Le tarissement des vaches laitières. Editions France agricole, Paris : 224 p.
- **SILAIT SALON INTERNATIONAL DU LAIT (2008).** Acte du 1er salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai 2008 Alger.

T

- **THIEULON M. (2005).** Lait pathogènes staphylocoques. Revue de la chambre d'agriculture du Cantal. pp :1-2.
- **TOMASSONE R., 1983 :** la régression : Nouveau regard sur une méthode statistique, Edition Masson Paris, 177p.

V

- **VIGNOLA C. (2002).** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75

W

- **WAES G, VAN BELLEGHEM, M.** Influence De La Mammite Sur Les Propriétés Technologiques Du Lait Et Sur La Qualité Des Produits Laitiers. *Le Lait*, 1969, **485-486** : 266-289
- **WALTER SCHAEAREN,** Station de recherché Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, Tachetés rouge Suisse 3/2007.
- **WATTIAUX, M-A. 1995.** Lactation et Récolte du lait Board of the Université of Wisconsin Système, 191 :

Annexes

Annexe I

➤ *Matériel utilisé au niveau de la ferme :*

-Pour le test CMT:

- ☆ -Palette à fond noir
- ☆ -Un réactif tensio-actif (solution de Teepol à 10%)

-Pour les prélèvements :

- ☆ -Flacons stérile de 60 ml
- ☆ -Glacière
- ☆ -Bains de glace
- ☆ -Alcool à 70
- ☆ -Compresses stériles
- ☆ -serviettes propres pour l'essuyage des mamelles.

➤ *Matériel et outils du laboratoire :*

Le matériel utilisé au laboratoire est réparti en 2 grandes catégories :

Le grand matériel (appareillage) :

- ☆ -Etuves à 30°,37° et 44°C.
- ☆ -Bain marie.
- ☆ -L'autoclave.
- ☆ -Balance analytique.
- ☆ -Compteur cellulaire.
- ☆ -Analyseur de cellules somatiques.
- ☆ -Centrifugeuse.
- ☆ -Vortex.

Le petit matériel (verrerie et autres)

- ☆ -Le bec Bunsen.
- ☆ -Tubes à essai.
- ☆ -Boites de Pétri
- ☆ -Flacons stériles de 180ml
- ☆ -Becher de 1000ml
- ☆ -Pipettes graduées
- ☆ -Pipettes Pasteur

- ☆ -Lames et lamelles
- ☆ -Tubes EDTA.
- ☆ -Tubes stérile.
- ☆ -Portoir.

Annexe II

Technique de prélèvement :

La valeur de l'examen bactériologique des laits de mammites dépend en grande partie de la qualité du prélèvement. La technique de prélèvement s'est inspirée des méthodes de Bind *et al.* (1980) et Mialot (1983).

➤ **Les principales phases du prélèvement de l'échantillon de lait de quartier pour examen bactériologique sont les suivantes :**

- Lavage des mains.
- Lavage et séchage des trayons.
- Désinfection de l'extrémité du trayon avec un tampon de coton imbibé d'alcool à 70°.
- Elimination des premiers jets.
- On saisit le flacon à prélèvement entre le pouce et l'index de la main gauche et on le retourne de telle sorte que le bouchon soit dirigé vers le bas.
- On dévisse le bouchon avec la main droite et on le porte entre l'index et le médus de la main gauche. Tube et bouchon ont alors leur ouverture dirigée vers le bas afin d'éviter toute contamination.
- On saisit le trayon de la main droite, on le ramène en position latérale et on trait presque horizontalement dans le flacon incliné au moment où le lait gicle
- On referme le flacon avant de le redresser.
- On identifie le flacon en inscrivant ; la date, le numéro de l'animal et le quartier prélevé.

Annexe III

Tableau : Résultats du CMT selon la race :

N° de la ferme	Nombre total de Mb	Nombre de Mb atteintes	Nombre total de H	Nombre de H atteintes
01	05	01	03	02
02	06	02	00	00
03	04	01	01	01
04	08	03	04	01
05	10	05	04	01
06	04	02	01	00
Total	37	14	13	05

Mb : Montbéliard

H : Holstein

Annexe IV

Composition en (g/l) des milieux de culture utilisés:

Le milieu	Composition	unité	pH
Gélose PCA	Digéré enzymatique de caséine... ..5.0 Extrait de levure.....2.5 Glucose anhydre.....1.0 Agar bactériologique15.0	g/l	7.0±0.2
Gélose VRBL	Tryptone.....7.0 Extrait autolyque de levure.....3.0 Lactose.....10.0 Sels biliaires.....1.5 Chlorure de sodium.....5.0 Rouge neutre.....0.03 Cristal violet.....0.002 Agar bactériologique.....15.0	g/l	7.4±0.2
Gélose CHAPMAN	Tryptone.....5 Peptone pepsique de viande.....5 Extrait de viande.....1 Mannitol.....10 Chlorure de sodium75 Rouge de phénol.....25mg Agar agar.....15	g/l	7.4±0.2
Bouillon Cœur cervelle (BHIB)	Proteose peptone.....10 Infusion de cervelle veau.....12.5 – Infusion de cœur bœuf.....5 Glucose.....2 Chlorure de sodium.....5 Hydrogénophosphate de sodium.....2.5	g/l	

Annexe V

Tableau : Résultats des analyses microbiologiques du lait mammitieux

Fermes	FMAT (ufc /ml)	CF (ufc /ml)	<i>S. aureus</i> (ufc /ml)
F1	15.10 ⁶	20.10 ³	26.10 ²
F2	11.10 ⁶	2.10 ³	4.10 ²
F3	13.10 ⁶	11.10 ³	5.10 ²
F4	17.10 ⁶	310.10 ³	125.10 ²
F5	18.10 ⁶	227.10 ³	13.10 ²
F6	10.10 ⁶	00	4.10 ²

Annexe VI

Le degré de la saleté des vaches au niveau des fermes visitées.



Annexe VII

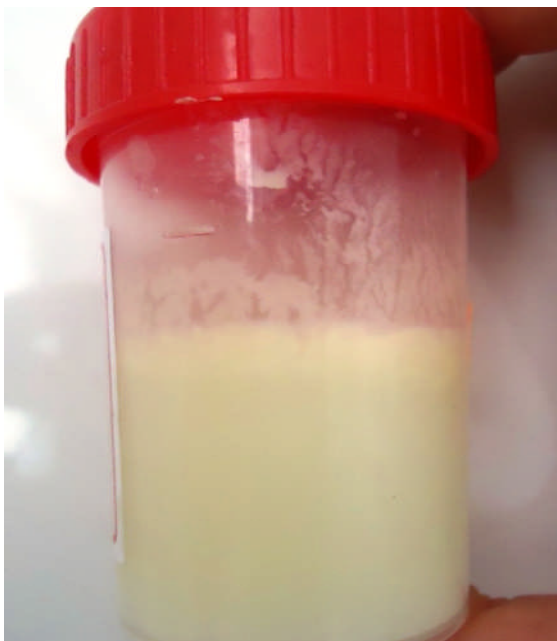
Les différents aspects du lait à 4°C



L'aspect du lait au premier jour (à 4°C)



L'aspect du lait au deuxième jour (à 4°C)



L'aspect du lait au troisième jour (à 4°C)



L'aspect du lait au quatrième jour (à 4°C)

Annexe VIII :

Fiches de renseignement de chaque ferme :

FERME 01 :

I- Informations générales

1-LieuAIT TOUDERT/ OUACIFS....., Le 15/05/2016

2- Eleveur : 01

3-Exploitation :PRIVE..... Depuis Quand :2004.....

4-Nombre de professionnels :02..... Nombre de trayeurs :02.....

5-Animaux élevés : Bovins Ovins Caprins
Oiseaux Canins Équins

6-Nombre de têtes bovines:.....13.....

7-Mode d'élevage : Intensif Semi-extensif Extensif

8-Tableau :

Catégories	Vaches	Vaches en lactation	Taureaux	Veaux
Nombre de têtes10....08.....00.....03.....

9-Type d'élevage : Laitier Viandeux Mixte

10-Nombre d'interventions vétérinaires par année :10.....

11-Mammites cliniques récentes (<1an) : Non Oui
Nombre :02..

12-Les mammites cliniques sont-elles traitées : Oui Non

13-Dépistage des mammites sub-cliniques : Oui Non

14-Les veaux sont-ils séparés de leurs mères : Oui Non

15-Destination du lait : Consommation familiale Industrie transformatrice

II- Caractéristiques des pratiques de la traite

1-Mode de traite : Manuel Mécanique

2-Nettoyage systématique de la mamelle : Oui Non

3-Utilisation d'une lavette : Non Oui Individuelles

- Collectives
- 4-Essuyage : Oui Non
- 5-Élimination des premiers jets : Oui Non Parfois
- 6-Égouttage régulier en fin de traite : Oui Non
- 7-Traite à part les vaches à mammites : Oui Non

III. Fiche individuelle de dépistage des mammites

C : Clinique ; S : Subclinique ; Quartiers : Antérieur Gauche (AG) ; Antérieur Droit (AD) ; Postérieur Gauche (PG) ; Postérieur Droit (PD) ; Mb : Montbéliard ; H : Holstein

N° de vache	Race	N° de lactation	Mois de lactation	AG	AD	PG	PD
1	Mb	03	02	-	-	-	-
2	Mb	04	04	-	-	-	-
3	H	05	03	+	-	-	-
4	Mb	05	02	-	-	-	+
5	H	04	03	-	-	-	-
6	H	02	04	-	+	-	-
7	Mb	03	03	-	-	-	-
8	Mb	05	04	-	-	-	-

FERME 02 :

I-Informations générales

1-Lieu....AIT TOUDERT/ OUACIFS....., Le 15/05/2016

2-Eleveur :..... 02.....

3-Exploitation :.....PRIVE..... Depuis Quand :.....2007.....

4-Nombre de professionnels :.....02..... Nombre de trayeurs :.....01.....

5-Animaux élevés : Bovins Ovins Caprins

Oiseaux Canins Équins
 6-Nombre de têtes bovines:...07.....

7-Mode d'élevage : Intensif Semi-extensif Extensif

8-Tableau :

Catégories	Vaches	Vaches en lactation	Taureaux	Veaux
Nombre de têtes06...06.....00.....01.....

9-Type d'élevage : Laitier Viandeux Mixte

10-Nombre d'interventions vétérinaires par année :.....15.....

11-Mammites cliniques récentes (<1an) : Non Oui Nombre : ...03..

12-Les mammites cliniques sont-elles traitées : Oui Non

13-Dépistage des mammites subcliniques : Oui Non

14-Les veaux sont-ils séparés de leurs mères : Oui Non

15-Destination du lait : Consommation familiale Industrie transformatrice

II- Caractéristiques des pratiques de la traite

1-Mode de traite : Manuel Mécanique

2-Nettoyage systématique de la mamelle : Oui Non

3-Utilisation d'une lavette : Non Oui Individuelles

Collectives

4-Essuyage : Oui Non

5-Élimination des premiers jets : Oui Non Parfois

6-Égouttage régulier en fin de traite : Oui Non

7-Traite à part les vaches à mammites : Oui Non

III. Fiche individuelle de dépistage des mammites

C : Clinique ; S : Subclinique ; Quartiers : Antérieur Gauche (AG) ; Antérieur Droit (AD) ; Postérieur Gauche (PG) ; Postérieur Droit (PD) ; Mb : Montbéliard ; H : Holstein

N° de vache	Race	N° de lactation	Mois de lactation	AG	AD	PG	PD
1	Mb	03	04	-	-	-	-
2	Mb	04	03	-	-	-	-
3	Mb	05	04	-	-	-	+
4	Mb	05	02	-	-	-	-
5	Mb	06	03	-	+	-	-
6	Mb	04	02	-	-	-	-

FERME 03 :

I-Informations générales

1-Lieu....AIT TOUDERT/ OUACIFS..., Le 18/05/2016

2-Eleveur :..... 03....

3-Exploitation :.....PRIVE..... Depuis Quand :....2002.....

4-Nombre de professionnels :.....01..... Nombre de trayeurs :....01.....

5-Animaux élevés : Bovins Oisieux Ovins Canins Caprins Équins

6-Nombre de têtes bovines:....12.....

7-Mode d'élevage : Intensif Semi-extensif Extensif

8-Tableau :

Catégories	Vaches	Vaches en lactation	Taureaux	Veaux
Nombre de têtes05...05.....02.....05.....

9-Type d'élevage : Laitier Viandeux Mixte

10-Nombre d'interventions vétérinaires par année :.....10.....

11-Mammites cliniques récentes (<1an) : Non Oui Nombre :.....

12-Les mammites cliniques sont-elles traitées : Oui Non

13-Dépistage des mammites sub-cliniques : Oui Non

14-Les veaux sont-ils séparés de leurs mères : Oui Non

FERME 04 :

I-Informations générales

1-Lieu....AIT TOUDERT/ OUACIFS....., Le 18/05/2016

2-Eleveur :.....04....

3-Exploitation :.....PRIVE..... Depuis Quand :....1998.....

4-Nombre de professionnels :.....03..... Nombre de trayeurs :....02.....

5-Animaux élevés : Bovins Oisoux Ovins Canins Caprins Équins

6-Nombre de têtes bovines:....26.....

7-Mode d'élevage : Intensif Semi-extensif Extensif

8-Tableau :

Catégories	Vaches	Vaches en lactation	Taureaux	Veaux
Nombre de têtes12...12.....02.....12.....

9-Type d'élevage : Laitier Viandeux Mixte

10-Nombre d'interventions vétérinaires par année :.....20.....

11-Mammites cliniques récentes (<1an) : Non Oui Nombre :..05

12-Les mammites cliniques sont-elles traitées : Oui Non

13-Dépistage des mammites subcliniques : Oui Non

14-Les veaux sont-ils séparés de leurs mères : Oui Non

15-Destination du lait : Consommation familiale Industrie transformatrice

II-Caractéristiques des pratiques de la traite

1-Mode de traite : Manuel Mécanique

2-Nettoyage systématique de la mamelle : Oui Non

3-Utilisation d'une lavette : Non Oui Individuelles

Collectives

4-Essuyage : Oui Non

- 5-Élimination des premiers jets : Oui Non Parfois
- 6-Égouttage régulier en fin de traite : Oui Non
- 7-Traite à part les vaches à mammites : Oui Non

III. Fiche individuelle de dépistage des mammites

C : Clinique ; S : Subclinique ; Quartiers : Antérieur Gauche (AG) ; Antérieur Droit (AD) ; Postérieur Gauche (PG) ; Postérieur Droit (PD) ; Mb : Montbéliard ; H : Holstein

N° de vache	Race	N° de lactation	Mois de lactation	AG	AD	PG	PD
1	Mb	03	02	-	-	-	-
2	Mb	04	05	-	-	-	-
3	H	05	03	-	-	-	-
4	Mb	05	04	-	-	-	-
5	Mb	06	04	-	-	-	-
6	Mb	06	05	-	+	-	-
7	Mb	05	05	-	-	-	-
8	Mb	04	03	+	-	-	-
9	H	02	04	-	-	-	-
10	Mb	04	05	-	-	+	-
11	H	06	03	+	-	-	-
12	H	06	02	-	-	-	-

FERME 05

I-Informations générales

1-Lieu....AIT TOUDERT/ OUACIFS....., Le 18/05/2016

2-Eleveur :..... 05....

3-Exploitation :.....PRIVE..... Depuis Quand :....2014.....

4-Nombre de professionnels :.....04..... Nombre de trayeurs :....03.....

5-Animaux élevés : Bovins Oisoux Ovins Canins Caprins Équins

6-Nombre de têtes bovines:....30.....

7-Mode d'élevage : Intensif Semi-extensif Extensif

8-Tableau :

Catégories	Vaches	Vaches en lactation	Taureaux	Veaux
Nombre de têtes14...14.....02.....14.....

9-Type d'élevage : Laitier Viandeux Mixte

10-Nombre d'interventions vétérinaires par année :.....40.....

11-Mammites cliniques récentes (<1an) : Non Oui Nombre : 03

12-Les mammites cliniques sont-elles traitées : Oui Non

13-Dépistage des mammites subcliniques : Oui Non

14-Les veaux sont-ils séparés de leurs mères : Oui Non

15-Destination du lait : Consommation familiale Industrie transformatrice

II-Caractéristiques des pratiques de la traite

1-Mode de traite : Manuel Mécanique

2-Nettoyage systématique de la mamelle : Oui Non

3-Utilisation d'une lavette : Non Oui Individuelles

Collectives

4-Essuyage : Oui Non

5-Élimination des premiers jets : Oui Non Parfois

6-Égouttage régulier en fin de traite : Oui Non

7-Traite à part les vaches à mammites : Oui Non

III. Fiche individuelle de dépistage des mammites

C : Clinique ; S : Subclinique ; Quartiers : Antérieur Gauche (AG) ; Antérieur Droit (AD) ; Postérieur Gauche (PG) ; Postérieur Droit (PD) ; Mb : Montbéliard ; H : Holstein

N° de vache	Race	N° de lactation	Mois de lactation	AG	AD	PG	PD
1	Mb	03	02	+	-	+	-
2	Mb	02	03	-	-	-	-
3	H	05	03	-	-	-	-
4	Mb	03	02	-	-	-	-
5	Mb	04	04	-	+	-	-
6	Mb	04	02	-	-	-	-
7	Mb	03	02	-	-	-	-
8	Mb	02	03	-	-	-	+
9	H	03	03	-	-	-	-
10	Mb	02	04	-	-	+	-
11	H	03	01	+	-	-	-
12	H	02	03	-	-	-	-
13	Mb	02	02	-	-	+	+
14	Mb	03	04	-	-	-	-

FERME 06 :

I-Informations générales

1-Lieu....AIT TOUDERT/ OUACIFS....., Le 18/05/2016

2-Eleveur :..... 06....

3-Exploitation :.....PRIVE..... Depuis Quand :....2013.....

4-Nombre de professionnels :.....01..... Nombre de trayeurs :....01.....

5-Animaux élevés : Bovins Oisieux Ovins Canins Caprins Équins

6-Nombre de têtes bovines:....06.....

7-Mode d'élevage : Intensif Semi-extensif Extensif

8-Tableau :

Catégories	Vaches	Vaches en lactation	Taureaux	Veaux
Nombre de têtes05...05.....00.....01.....

9-Type d'élevage : Laitier Viandeux Mixte

10-Nombre d'interventions vétérinaires par année :.....10.....

11-Mammites cliniques récentes (<1an) : Non Oui Nombre :

12-Les mammites cliniques sont-elles traitées : Oui Non

13-Dépistage des mammites subcliniques : Oui Non

- 14-Les veaux sont-ils séparés de leurs mères : Oui Non
- 15-Destination du lait : Consommation familiale Industrie transformatrice

II-Caractéristiques des pratiques de la traite

- 1-Mode de traite : Manuel Mécanique
- 2-Nettoyage systématique de la mamelle : Oui Non
- 3-Utilisation d'une lavette : Non Oui
Individuelles
Collectives
- 4-Essuyage : Oui Non
- 5-Élimination des premiers jets : Oui Non Parfois
- 6-Égouttage régulier en fin de traite : Oui Non
- 7-Traite à part les vaches à mammites : Oui Non ((

III. Fiche individuelle de dépistage des mammites

C : Clinique ; S : Subclinique ; Quartiers : Antérieur Gauche (AG) ; Antérieur Droit (AD) ; Postérieur Gauche (PG) ; Postérieur Droit (PD) ; Mb : Montbéliard ; H : Holstein

N° de vache	Race	N° de lactation	Mois de lactation	AG	AD	PG	PD
1	Mb	03	04	-	-	-	+
2	Mb	03	02	-	-	-	-
3	Mb	03	02	-	+	-	-
4	Mb	02	03	-	-	-	-
5	H	05	05	-	-	-	-

Annexe IX:

Moyenne arithmétique

$$\bar{x} = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n_i}$$

Variance :

$$\delta^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

Ecart type :

$$\delta = \sqrt{\delta^2}$$

Coefficient de variation :

$$CV \% = \delta \cdot 100 / \bar{x}$$

Intervalle de confiance :

$$d = t_{1-\alpha/2} \frac{\delta}{\sqrt{n}} \quad \text{avec } t_{1-\alpha/2} : \text{valeur critique de Student à un risque d'erreur } \alpha=0.05$$

Erreur relative à la moyenne :

$$Dr \% = t_{1-\alpha/2} \frac{cv \%}{\sqrt{n}}$$

Analyse de la variance :

Il ya différence significative si $F_{obs} \geq F_{thSNE DECOR}$ correspondante à K1 : ddl factoriel et K2 : ddl résiduelle avec un risque d'erreur $\alpha=0.05$.

Comparaison de proportions :

$$P_1 \neq P_2 \text{ Si } \varepsilon = \frac{|P_1 - P_2|}{\sqrt{\frac{P_1 Q_1}{n_1} + \frac{P_2 Q_2}{n_2}}} \geq 1,96$$

Avec : $Q_1 = 1 - P_1$ et $Q_2 = 1 - P_2$

ε : Ecart réduit

Identification de groupes homogènes de fermes :

(Test de plus petite différence significative –PPDS)

$$\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2 \text{ Si } |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| \geq \sqrt{\frac{2CMr}{n_i}} \quad (\text{table de Student})$$

CMr : carré moyen résiduel (Tableau d'analyse)

Identification des fermes les plus atteintes :

(Test de Gupta- Sobel)

$$\begin{aligned} \text{Calcul de Q Gupta} &= K_{\text{gupta- Sobel}} \sqrt{\frac{2CMr}{ni}} \\ &= \sqrt{2} d_{\text{Dunett}} \sqrt{\frac{2CMr}{ni}} \text{ (Table de Dunett)} \end{aligned}$$

Toute moyenne $> (\bar{x}_{\max} - Q)$ sera considérée des plus atteintes

Coefficient de corrélation r :

$$r = \frac{SPEx,y}{\sqrt{SCEx.SCEy}}$$

SPEx,y : somme des produits des écarts entre le nombre de vaches atteintes (x_i) et le nombre de germes observés (y), et leurs moyennes correspondantes (\bar{x}, \bar{y})

SCEx et SCEy : somme des carrés des différences respectives des nombres de vaches atteintes et des nombres de germes présents et leurs moyennes correspondantes.