

ETIOLOGIE DES MAMMITES CLINIQUES DES OVINS LAITIERS DANS LE BASSIN DE ROQUEFORT

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ETAT

présentée et soutenue publiquement en 2006
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

par

Benjamin, Pierre, Joseph BAULEZ
Né, le 25 juin 1980, Rodez (*Aveyron*)

Directeur de thèse : **M. le Docteur Dominique BERGONIER**

JURY

PRESIDENT :
M. Henry DABERNAT

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Dominique BERGONIER
M. Xavier BERTHELOT

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Remerciements

Je tiens à exprimer, en tout premier lieu, toute ma gratitude au Dr Bergonier qui a dirigé cette thèse. Pour son aide précieuse et ses encouragements, je le remercie vivement.

Mes remerciements les plus chaleureux vont aux Dr Duquesnel, directeur du laboratoire départemental du Tarn, et Dr Brugidou, directeur adjoint du laboratoire départemental de l'Aveyron, pour nous avoir accueillis au sein de leur structure.

Je tiens également à exprimer ma gratitude à l'ensemble du personnel de ces deux laboratoires pour leur gentillesse et leur efficacité.

Mes pensées vont également au (Dr ?) Olivier Ségura pour son aide à la réalisation de cette thèse et surtout pour les bons (et mauvais) moments passés à l'ENVT.

A mes parents et ma famille pour leur soutien tout au long de mes études.

A Juliette qui partage ma vie depuis près de 3 ans.

A mes potes de l'ENVT : Guigui, Douze, Seb, Lionel, les Brassacois (Iban, Alex, Kiki et Adrien) et autres énergumènes de la Pescajoune (Ludo, Bibi, Vincent et Guilhem).

A mes ptits poulots et particulièrement : Milou, Babar, Brice, Walou, Vivien, Ronsard, ...

Une pensée à tous mes amis du lycée Ste Marie, Rodez : Alex, Emilie, Guigui, Hélène, Laetitia et Marie.

Table des matières

Remerciements.....	4
Tables des illustrations.....	5
I. INTRODUCTION	11
A. La production laitière ovine en France	11
B. Présentation de l'étude.....	12
C. Eléments de méta-analyse.....	12
D. Importance du sujet	15
II. MATERIEL ET METHODES.....	17
A. Zone géographique.....	17
B. Choix des laboratoires	17
C. Systèmes d'élevages.....	18
1. Conduite d'élevage.....	18
2. Suivi technique.....	18
3. Mécanisation de la traite	19
4. Gestion des réformes.....	19
D. Définition des cas de mammites cliniques	20
E. Réalisation des prélèvements.....	20
F. Technique d'analyse au laboratoire A	21
1. Réception au laboratoire.....	21
2. Analyse bactériologique.....	21
3. Recherche mycologique	23
4. Présentation des résultats	23
G. Technique d'analyse au laboratoire B.....	23
1. Réception au laboratoire.....	23
2. Analyse bactériologique.....	23
3. Recherche mycologique	25
4. Présentation des résultats	25
H. Acquisition des données	26
1. Formes des données	26
2. Création d'un fichier informatique de données.....	26
3. Mise en forme de la synthèse des résultats	26

I. Traitement des données	27
1. Découpage des résultats en groupes bactériens.....	27
2. Traitement informatique.....	28
III. RESULTATS	29
A. Principaux germes isolés.....	29
1. Présentation générale.....	29
2. Germes Gram positifs.....	33
3. Germes Gram négatifs.....	35
4. Autres germes.....	36
5. Co-infections	37
B. Influence du stade de lactation et de la campagne laitière	38
1. Influence du stade de lactation	38
2. Influence de la campagne laitière.....	41
IV. DISCUSSION	43
A. Validité des matériels et méthodes.....	43
1. Qualité de l'échantillonnage.....	43
2. Qualité intrinsèque des échantillons.....	44
3. Analyse.....	45
4. Acquisition des données.....	45
B. Recours à l'analyse de laboratoire.....	46
C. Germes isolés de mammites cliniques : généralités.....	46
D. Mammites en peri partum.....	47
1. Mammites fongiques	47
2. Mammites à <i>Pseudomonas</i> spp.	47
E. Mammites de la phase d'allaitement	48
F. Mammites de traite	49
G. Autres mammites.....	49
1. Mammites à staphylocoques coagulase négative	49
2. Mammites à streptocoques	50
3. Mammites à entérobactéries.....	51
H. Comparaison avec le bassin des Pyrénées-Atlantiques.....	52

V. CONCLUSION.....	54
Annexes.....	52
Glossaire.....	61
Bibliographie.....	62

Table des Illustrations

Liste des figures :

Figure 1. Evolution de la production laitière ovine en France [25].	11
Figure 2. Répartition des effectifs concernés par 13 études portant sur l'étiologie des mammites cliniques en filières laitières.	13
Figure 3. Répartition chronologique du nombre de publications concernant l'étiologie des mammites cliniques en ovin laitier.	14
Figure 4. Carte représentant l'étendue du bassin ovin laitier de Roquefort.	17
Figure 5. Année d'installation des machines à traire (données 2003) [26].	19
Figure 6. Causes de réforme des brebis dans les deux principaux bassins laitiers (Lagriffoul, 2003, données non publiées).	20
Figure 7. Tri des résultats selon l'appartenance aux grands groupes bactériens.	27
Figure 8. (à gauche) Nombre de prélèvements de lait de mammites réalisés par cabinet vétérinaire au cours des 8 dernières campagnes laitières.	30
Figure 9. (à droite) Répartitions des cabinets vétérinaires selon le nombre de prélèvements réalisés au cours de l'étude (8 campagnes laitières).	30
Figure 10. Fréquence des principaux types de résultats obtenus à partir de laits de mammites cliniques.	30
Figure 11. Fréquence relative des principaux groupes de germes isolés de cultures pures lors de mammites cliniques dans les différents laboratoires et pour les deux réunis (Roquefort).	31
Figure 12. Fréquence des principaux groupes de germes isolés de cultures pures lors de mammites cliniques dans les différents laboratoires et pour les deux réunis (Roquefort).	32
Figure 13. Fréquence des principaux groupes de germes issus de cultures pures et de co-infections lors de mammites cliniques dans les différents laboratoires et pour les deux réunis (Roquefort).	32
Figure 14. Fréquence relative des principaux groupes bactériens Gram+ isolés de cultures pures lors de mammites cliniques dans les différents laboratoires et sur les deux réunis (Roquefort).	33
Figure 15. Fréquence relative des principaux groupes bactériens Gram+ isolés lors de mammites cliniques dans les différents laboratoires et pour les deux réunis (Roquefort) parmi les cultures pures et les co-infections.	34
Figure 16. Fréquence relative des principaux groupes bactériens Gram+ isolés de cultures pures lors de mammites cliniques dans les différents laboratoires et pour les deux réunis (Roquefort).	34
Figure 17. Fréquence des Entérobactéries au sein des bactéries Gram- isolées de cultures pures de mammites cliniques dans les différents laboratoires et pour les deux réunis (Roquefort).	35

Figure 18. Fréquence relative des bactéries Gram- isolées de cultures pures lors de mammites cliniques au sein du bassin de Roquefort (deux laboratoires réunis).	36
Figure 19. Fréquence des isolats obtenus lors de co-infection à partir de mammites cliniques au sein du bassin de Roquefort (deux laboratoires réunis).....	37
Figure 20. Répartition moyenne des envois de prélèvements au cours de la campagne.	38
Figure 21. Répartition moyenne des isollements au cours de la campagne durant la période 1998-2005.	39
Figure 23. Nombre de prélèvements analysés en fonction des campagnes laitières.	41
Figure 24. Evolution par campagne de la fréquence des principaux groupes de germes isolés lors de mammites cliniques dans le bassin de Roquefort (hors co-infections).	42
Figure 25. Evolution spéciale, par campagne, de la fréquence des principaux groupes de germes isolés lors de mammites cliniques dans le bassin de Roquefort.....	42
Figure 26. Fréquence des principaux types de résultats obtenus à partir de laits de mammites cliniques au sein du bassin de Roquefort et des Pyrénées-Atlantiques.	52
Figure 27. Fréquence des principaux groupes de germes isolés de cultures pures lors de mammites au sein du bassin de Roquefort et des Pyrénées-Atlantiques.	53

Liste des tableaux :

Tableau 1. La production laitière ovine en France en 2000 [25].....	11
Tableau 2: Références bibliographiques traitant de l'étiologie des mammites cliniques ovines.	13
Tableau 3: Paiement du lait selon les seuils de comptages cellulaires en système Roquefort - Campagne 2004.....	16
Tableau 4: Genres bactériens en fonction des résultats aux tests biochimiques.....	22
Tableau 5: Galeries d'identification utilisées en fonction des résultats aux tests biochimiques (laboratoire A).....	22
Tableau 6. Galeries d'identifications utilisées en fonction des résultats aux tests biochimiques (laboratoire B).....	25
Tableau 7. Statistiques descriptives par élevage	29
Tableau 8. Détails (en nombre de prélèvements) des germes de la catégorie « Autres Gram+ » isolés de mammites cliniques (cultures pures).....	35
Tableau 9. Détails (en nombre de prélèvements) des germes de la catégorie « Autres » isolés de mammites cliniques (cultures pures).....	36

Liste des annexes :

Annexe 1. Résultats des analyses bactériologiques (en nombre de prélèvements) de laits issus de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort).....	55
Annexe 2. Tableau général des résultats des analyses bactériologiques (en nombre de prélèvements) de laits issus de mammites cliniques, ayant donnés des cultures pures, dans les 2 laboratoires et total (Roquefort).....	55
Annexe 3. Détails (en nombre de prélèvements) des principaux Micrococcaceae isolés de mammites cliniques, ayant données des cultures pures, dans les 2 laboratoires et total (Roquefort).	56
Annexe 4. Détails (en nombre de prélèvements) des principaux groupes de Gram - isolés en culture pure de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort).	56
Annexe 5. Détails (en nombre de prélèvements) des germes de la catégorie « Autres » isolés en culture pure de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort).	57
Annexe 6. Tableau général des résultats d'analyses bactériologiques (en nombre de prélèvements) de laits issus de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort) : co-infections.....	58
Annexe 7. Détails (en nombre de prélèvements) des principaux Micrococcaceae isolés de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort) : co-infections.....	58
Annexe 8. Détails (en nombre de prélèvements) des principaux groupes de Gram - isolées de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort) : co-infections.	59
Annexe 9. Détails (en nombre de prélèvements) des bactéries appartenant à la catégorie « Autres » isolées de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort) : co-infections.	59
Annexe 10. Nombre de laits ovins provenant de mammites cliniques analysés dans les laboratoires A et B en fonction des campagnes laitières.	60

I. Introduction

A. La production laitière ovine en France

La France est le quatrième pays européen producteur de lait issu de brebis (avec 250 millions de litres de lait) derrière la Grèce, l'Italie et l'Espagne. Cette production correspond à une activité d'élevage importante pour trois régions de montagne française : principalement le Sud du Massif central avec le rayon de Roquefort (43 % des élevages), mais également le sud du département des Pyrénées-Atlantiques (43 %) et la Corse (9 %). Bien que le rayon de Roquefort regroupe seulement 43 % des éleveurs, il assure près de 70 % de la production française de lait de brebis (cf. Tableau 1). En dehors de ces trois principales régions traditionnelles, on trouve 310 éleveurs (5 % des élevages) répartis de façon diffuse, principalement en marge du rayon de Roquefort (dans les régions Midi-Pyrénées et Languedoc-Roussillon), en Rhône-Alpes et en Provence-Alpes-Côte d'azur [30].

Tableau 1. La production laitière ovine en France en 2000 [25].

	Roquefort	Pyrénées Atlantiques	Corse	Hors bassin	Total
Nombre de producteurs	2 510	2 480	520	310	5 820
Nombre de brebis	825 000	473 000	94 000	52 000	1 419 000
Production en millions de litres (en % du total)	180 (70 %)	50 (20 %)	10 (5 %)	10 (5 %)	250 (100 %)

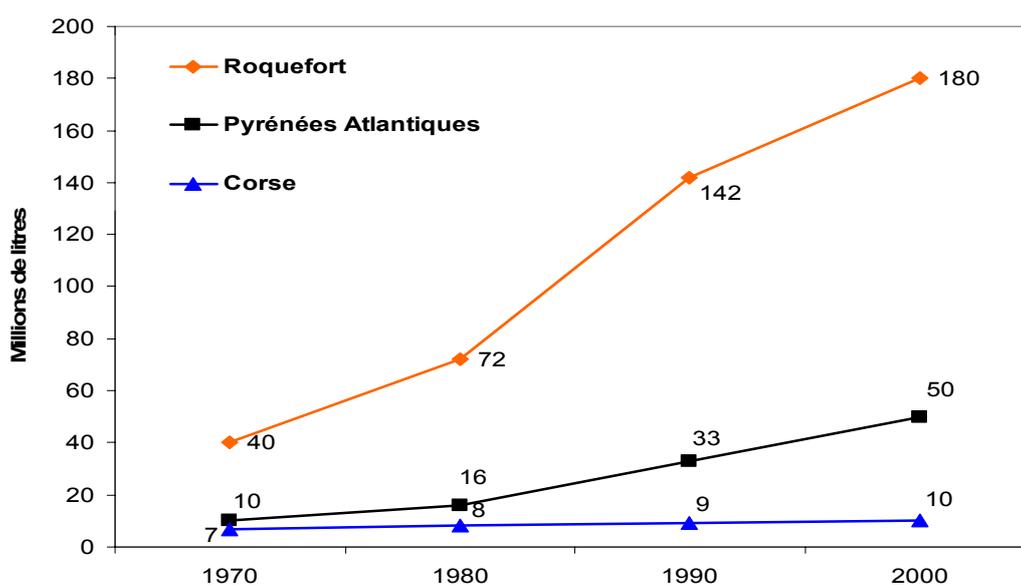


Figure 1. Evolution de la production laitière ovine en France [25].

Le bassin de Roquefort s'étend sur 5 départements et regroupe 2510 producteurs, soit près de 825 000 brebis. La production annuelle est d'environ de 180 millions de litres de lait par campagne, valorisée pour moitié en fromages au lait cru. Cette production représente 70 % de la production laitière ovine française. La majorité ($\approx 50\%$) est transformée en Appellation d'Origine Contrôlée (AOC) Roquefort, le reste étant transformé en produits de diversification : pérails, pécora, féta, Après une nette augmentation de la production des années 1970 au milieu des années 1990, une relative stabilité est enregistrée depuis une dizaine d'années [25].

Dans les Pyrénées-Atlantiques, durant les dix dernières années, on observe au contraire une augmentation de la production de 4 % par an (soit près de 15 millions de litres en 10 ans). La valorisation du lait est effectuée en fromage à pâte pressée non cuite pur brebis (9 500 tonnes de fromages en 2003) ou mixte (avec du lait de vache). Environ un tiers de la production est valorisée en fromages d'AOC Ossau-Iraty.

En Corse, on note une relative stabilité de la production et de la transformation avec 400 tonnes de fromages. L'AOC Brocciu porte sur un fromage de lactosérum.

B. Présentation de l'étude

Cette étude se propose d'étudier rétrospectivement l'étiologie des mammites cliniques ovines dans le bassin laitier de Roquefort (race Lacaune). Elle est fondée sur les résultats d'analyses bactériologiques réalisées dans deux laboratoires de la zone. L'étude regroupe ainsi la totalité des résultats d'analyse de laits de mammites reçus par ces deux laboratoires sur les sept dernières campagnes laitières, de novembre 1998 à juin 2005.

Les infections intra-mammaires ou mammites chez les ovins laitiers sont des affections ayant, dans la majeure partie des cas, une origine bactérienne. Cette étude n'abordera pas les infections mammaires d'origine virale et mycoplasmique, d'autant que les mammites mycoplasmiques ne sont pas décrites dans le bassin de Roquefort.

C. Eléments de méta-analyse

Nous allons présenter ici sommairement l'état des travaux de recherches, menés jusqu'à présent, concernant l'étiologie des mammites cliniques des ovins.

Dix-sept études portent sur ce sujet dans la littérature entre 1961 et 2005 (cf.

Tableau 2). L'étiologie des mammites cliniques des ovins est donc très peu documentée si l'on compare à d'autres espèces : ainsi, on retrouve plus de 4000 références pour une recherche identique sur les mammites cliniques bovines. (recherche internet sur le site Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>), réalisée le 11 février 2006)

Tableau 2: Références bibliographiques traitant de l'étiologie des mammites cliniques ovines.

Réf. = référence bibliographique ; Trx = troupeaux ; Ax = animaux ; Isol = isolements ; NR = non renseigné

All = Allaitant

	Auteur	Réf. Biblio	Année	Pays	Race	Nombre			
						Trx	Ax	Cas	Isol
A L L *	Kirk	22	1996	USA	Dorset Polypay	1	NR	18	NR
	Watson	45	1990	Australie	Merino poll dorset croisée	8	1093	153	170
	Kornel	23	1992	Inde	Corriedale	1	3719	15	NR
	Quinlivan	36	1968	Nlle Zélande	NR	NR	261	157	NR
	Kirk	20	1980	USA	Croisée	1	263	6	NR
L A I T	Las Heras	29	2002	Espagne	Awassi / Rubia	1	58	13	NR
	Lafi	25	1998	Jordanie	Awassi	20	128	145	NR
	Queiroga	35	1997	Portugal	Awassi / Awassi Croisée	NR	476	18	NR
	Bergonier	5	1998	France	Lacaune, Manech, Basco béarnaise, Lacha, italian	147	636	636	734
	Winter	46	1996	Allemagne	NR	3	52	42	NR
	Indrebo	19	1991	Norvège	NR	NR	228	228	NR
	Al-samarre	1	1985	Irak	NR	5	272	34	NR
	Shoop	40	1984	USA	NR	5	20	20	NR
	Guitierrez	17	1982	Espagne	NR	NR		71	NR
	Marco	30	1991	Espagne	NR	NR	187	9	NR
	Segura	39	2005	France	Basco-béarnaise / Manech	87	422	422	NR

Si l'on restreint le champ de recherche à la filière laitière, parmi ces seize études, onze seulement sont retenues. Compte tenu des différences de système d'élevage entre la production ovine laitière et viande, il semble en effet hasardeux de transposer les données disponibles en élevage allaitant [19, 21, 22, 45] au système laitier.

De plus, au regard de la Figure 2, qui décrit le nombre de troupeaux concernés en fonction du nombre de cas cliniques, on note que la majorité des études porte sur un nombre restreint de cas cliniques et/ou de troupeaux sondés. Ceci nous montre que les revues bibliographiques disponibles portant sur l'étiologie des mammites cliniques ovines décrivent dans la majorité des cas des situations pouvant apparaître comme particulières, basées sur quelques élevages et sur un nombre restreint de cas cliniques.

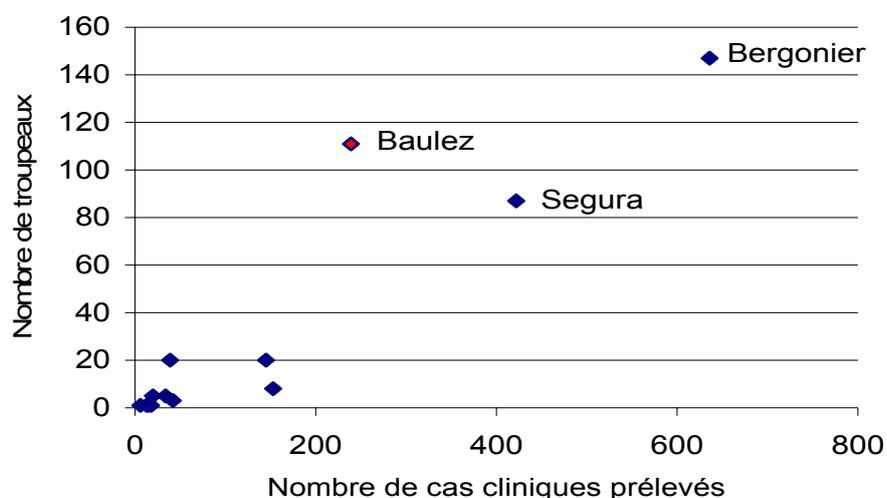


Figure 2. Répartition des effectifs concernés par 13 études portant sur l'étiologie des mammites cliniques en filières laitières.

Cependant, quelques publications se démarquent :

- Watson [45] décrit 153 cas cliniques au sein de huit troupeaux ; le nombre de cas est conséquent mais son étude concerne des élevages allaitant.

- Bergonier *et al.* [5] publient en 1998 une étude précisant l'étiologie des mammites cliniques ovines à partir de 636 prélèvements réalisés sur 147 troupeaux. Cependant, cette étude regroupe trois pays (France, Italie et Espagne). Les variations entre les conduites d'élevages ne permettent pas d'extrapoler ces résultats au bassin laitier de Roquefort qui correspond à un schéma unique de production.

- Segura [39], dans une étude similaire à la présente, précise la situation dans le deuxième bassin ovin laitier français (cf. Tableau 1): le bassin des Pyrénées-Atlantiques. Il décrit la situation au sein de 87 élevages en s'appuyant sur 422 analyses réalisées sur 11 campagnes laitières.

En outre, la Figure 3 montre que les travaux relatifs à l'étiologie des mammites en production ovine semblent prendre une importance croissante depuis le début des années 80. Ceci peut être mis en parallèle avec la volonté de contrôle des mammites pour satisfaire à des exigences réglementaires, sanitaires ou économiques (cf. paragraphe D). Cependant, le volume total des publications reste très modeste.

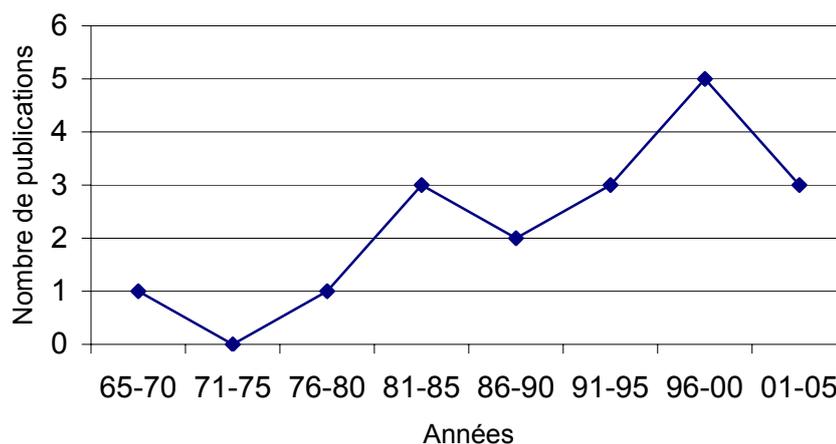


Figure 3. Répartition chronologique du nombre de publications concernant l'étiologie des mammites cliniques en ovine laitier.

Il faut également noter que les treize publications concernant la production ovine laitière peuvent être classées selon les zones géographiques d'où elles sont issues. Ainsi, deux véritables bassins laitiers se distinguent :

- ◆ le bassin de méditerranée occidentale : France, Espagne, Portugal,... (qui possède historiquement une tradition laitière de fromages affinés).
- ◆ le bassin du Moyen Orient : Turquie, Jordanie, Irak (dans lequel le lait est traditionnellement valorisé sous forme de fromages en saumure ou de produits frais fermentés).

On retrouve par ailleurs des pays tels les Etats-Unis, l'Allemagne, la Norvège, la Nouvelle-Zélande, qui ne comptent que quelques élevages ovins laitiers et pas de réelle zone de production. Les publications issues de ces derniers ne peuvent que difficilement refléter

une situation globale. En tenant compte de ce classement, seules neuf publications émanent d'élevages situés dans un bassin traditionnel de production laitière ovine et peuvent éventuellement prétendre à être représentatives d'un ensemble.

Il semble alors hasardeux d'étendre ces données publiées à une production aussi spécifique que la production laitière ovine dans le bassin de Roquefort.

La présente étude comporte donc, par rapport aux publications existantes sur le sujet, un nombre important de cas cliniques répartis dans de nombreux élevages. En outre, aucune étude préalable n'a été réalisée sur ce sujet de manière spécifique au bassin de Roquefort. Aussi était-il intéressant d'approfondir l'étude étiologique des mammites cliniques, la seule symptomatologie ne permettant pas de faire la différence entre les divers germes responsables.

D. Importance du sujet

Depuis une dizaine d'années, l'importance des mammites ovines s'est accrue tant au niveau réglementaire que sanitaire et économique. En effet, plusieurs dispositions réglementaires nationales et européennes visant la maîtrise de la qualité et de la sécurité du lait, notamment lorsqu'il est transformé cru, ont été appliquées. Dans les années 1990, les directives européennes 92/46 et 94/71 ont exigé (par l'intermédiaire de l'arrêté ministériel de mars 1994) la traite d'animaux en bonne santé et ont fixé des seuils de germes et de staphylocoques à coagulase positive (SCP) au-delà desquels le lait était interdit à la consommation humaine. Des dérogations existaient pour les fabrications fromagères ovines traditionnelles à durée d'affinage importante. Un nouveau règlement européen (n° 2073/2005), applicable au 1^{er} janvier 2006 et relatif à la sécurité microbiologique des denrées d'origine animale, précise de nouveaux seuils pour les dénombrements de SCP, et pour la première fois, impose la recherche d'entérotoxines dans les produits en cours de fabrication.

D'un point de vue sanitaire, la connaissance de la nature, de la fréquence et des modes de transmission des mammites est primordiale pour la mise au point des programmes de maîtrise de la pathologie mammaire. En outre, depuis 1993, la maîtrise des mammites revêt un enjeu économique car un système de paiement du lait à la qualité cellulaire a été mis en place dans le rayon de Roquefort (cf. Tableau 3). La présence de résidus de traitements antibiotiques (ou inhibiteurs) dans le lait entraîne également des retenues sur le paiement du lait, en sus de l'interdiction réglementaire.

Tableau 3: Paiement du lait selon les seuils de comptages cellulaires en système Roquefort - Campagne 2004.

Grade	Moyenne des résultats du mois	Incidence sur le prix par 1000 litres de lait
A	≤ 500 000	Super A possible
B	< à 500 000 et ≤ à 800 000	0
C	< à 800 000 et ≤ à 1 100 000	- 30.50 €
D	> à 1 100 000	- 68.60 €

Source Confédération Roquefort
Campagne 2004

Ces éléments ont eu pour conséquence la modification de certaines pratiques et l'expansion de programmes de contrôle des mammites. Le traitement au tarissement est à présent fréquemment réalisé. Lors de la campagne laitière 1999, en moyenne 64 % des brebis traites ont été traitées au tarissement parmi les élevages en CLO. Ceci a pu avoir pour conséquence, dans certains élevages, la sélection de germes opportunistes à l'origine de mammites à la mise bas [25].

En outre, depuis la campagne 2002, une sélection génétique avec indexation des mâles sur les comptages de cellules somatiques est réalisée en race Lacaune vis-à-vis de la résistance aux mammites.

La connaissance de l'étiologie des mammites cliniques des ovins laitiers revêt donc un intérêt réglementaire, sanitaire, économique et génétique majeur.

II. Matériel et méthodes

A. Zone géographique

Les prélèvements de laits proviennent du bassin laitier de Roquefort qui s'étend principalement sur les départements de l'Aveyron, de la Lozère et du Tarn, mais également sur les départements du Gard, de l'Hérault et du Tarn-et-Garonne (cf. Figure 4). Cette extension géographique est fixée par le décret d'AOC.



Figure 4. Carte représentant l'étendue du bassin ovin laitier de Roquefort.

B. Choix des laboratoires

Deux laboratoires départementaux principaux sont situés sur ce bassin laitier de Roquefort (laboratoires A et B). Notre base de données a été donc constituée à partir des archives de ces deux laboratoires.

Pour le laboratoire A, les données recueillies correspondent à des analyses réalisées au cours des 8 dernières campagnes laitières (de janvier 1998 à juillet 2005). Durant cette période, 172 laits provenant de 89 élevages ont été soumis à analyse bactériologique.

Pour le laboratoire B, les données recueillies correspondent à des analyses réalisées au cours des 6 dernières campagnes laitières (d'octobre 1999 à juillet 2005). Durant cette période, 65 laits provenant de 22 élevages ont été soumis à analyse bactériologique.

Une campagne laitière débute au mois d'octobre lors des mises bas et se termine au mois de septembre de l'année suivante. Ainsi, par exemple, la campagne laitière 2000 a débuté le 1^{er} octobre 1999 et s'est achevée fin septembre 2000.

C. Systèmes d'élevages

Les prélèvements furent réalisés dans des élevages d'ovins lait de race Lacaune. Les troupeaux du bassin de Roquefort comportent en moyenne 302 brebis laitières [30] (est considérée brebis laitière, l'animal âgé d'au moins un an). Ces troupeaux présentent les caractéristiques générales suivantes.

1. Conduite d'élevage

La mise à la reproduction est principalement effectuée par insémination artificielle (IA) en race pure.

Les mises bas ont lieu généralement d'octobre à décembre. Les agneaux pèsent à la naissance 4 kg pour les femelles et 4,5 kg pour les mâles. Ils sont sevrés à 28 jours au poids de 12 kg pour les femelles et 13 kg pour les mâles. L'âge à la première mise bas est en moyenne de 390 jours avec un intervalle entre mise bas de 365 jours.

En conduite Roquefort, la traite est réalisée en moyenne du 31 décembre au 19 juillet suivant. La traite dure donc en moyenne 201 jours pour une production laitière moyenne par brebis de 253 litres par campagne [30]. La période de conduite hivernale en stabulation doit être réduite au maximum pour laisser place à la sortie en pâturages.

2. Suivi technique

Au sein du bassin de Roquefort, le suivi technique des élevages, assuré par le contrôle laitier, est très développé ; il concerne près de 95 % des brebis Lacaune lait. Les élevages peuvent adhérer à deux types de contrôles :

- ◆ un Contrôle Laitier Officiel (CLO) représentant la base de sélection de la race.
- ◆ un Contrôle Laitier Simplifié (CLS) pour les autres troupeaux.

Un programme de contrôle des mammites est assez largement répandu dans le bassin de Roquefort. La lutte est basée sur trois points capitaux :

- ◆ l'élimination des mammites est assurée par la réforme précoce des brebis atteintes de mammites cliniques. Le traitement au tarissement, d'autre part, est largement répandu : en 1999, 66 % des éleveurs au CLO traitaient en moyenne 64 % des brebis laitières de leur troupeau [27]. Ce pourcentage a augmenté depuis.
- ◆ la prévention de l'apparition de mammites passe par un contrôle annuel des installations de traite et par l'utilisation de produits antiseptiques après la traite, encore peu répandue.
- ◆ la détection des infections intra-mammaires subcliniques est assurée par la réalisation de California Mastitis Test (CMT) et par les comptages cellulaires individuels (surtout pour les élevages au CLO).

3. Mécanisation de la traite

Des différences notables de système d'élevage apparaissent entre les exploitations des deux principaux bassins d'ovins laitiers (bassin de Roquefort et Pyrénées-Atlantiques) [26]. La mécanisation de la traite est présente depuis de nombreuses années dans la quasi-totalité des exploitations du bassin de Roquefort. Par contre, le taux de mécanisation en Pyrénées-Atlantiques atteint seulement 44 % [26] même s'il connaît une progression régulière.

Sur six campagnes, une machine à traire est contrôlée en moyenne 4 fois dans le bassin de Roquefort et uniquement 3 fois pour les Pyrénées-Atlantiques. Les contrôles de la machine à traire sont réalisés durant la période de non-collecte respectivement dans 89 % et 67 % [26] des cas pour le bassin de Roquefort et des Pyrénées-Atlantiques. Ces contrôles visent à préparer la prochaine campagne laitière. Les contrôles effectués durant la période de traite sont majoritairement réalisés pour répondre à des problèmes spécifiques (mammites, qualité du lait).

La Figure 5 illustre le fait que les investissements en machines à traire s'étalent depuis les années 70 dans le bassin de Roquefort (phase actuelle de renouvellement), alors qu'ils se développent depuis la fin des années 80 dans le bassin des Pyrénées-Atlantiques (phase de premier investissement).

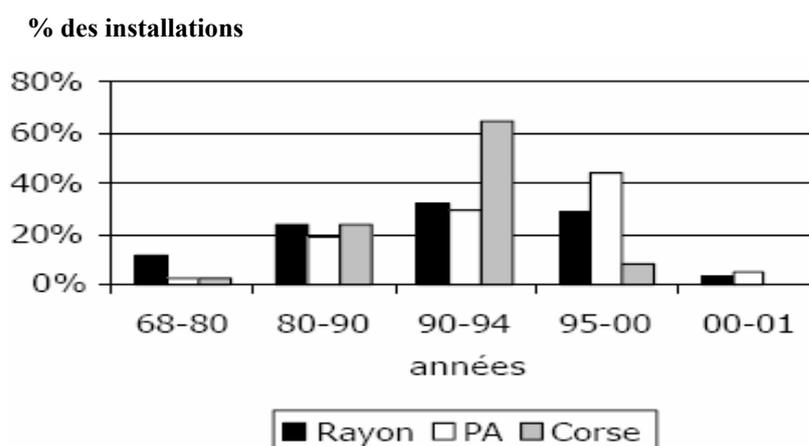


Figure 5. Année d'installation des machines à traire (données 2003) [26].

Rayon = Bassin de Roquefort ; PA = Bassin des Pyrénées-Atlantiques

4. Gestion des réformes

Les taux moyens de réformes sont respectivement de 20,7 % et 14,4 % pour les bassins laitiers de Roquefort et des Pyrénées-Atlantiques (Lagriffoul, données non publiées).

Les principales causes de réformes dans les deux bassins sont représentées à la Figure 6. La cause de réforme « lait » comprend les problèmes de persistance et de niveau de production lactée. Un problème de mammites justifie 26,7 % des réformes dans le bassin de Roquefort, contre 19,6 % en Pyrénées-Atlantiques.

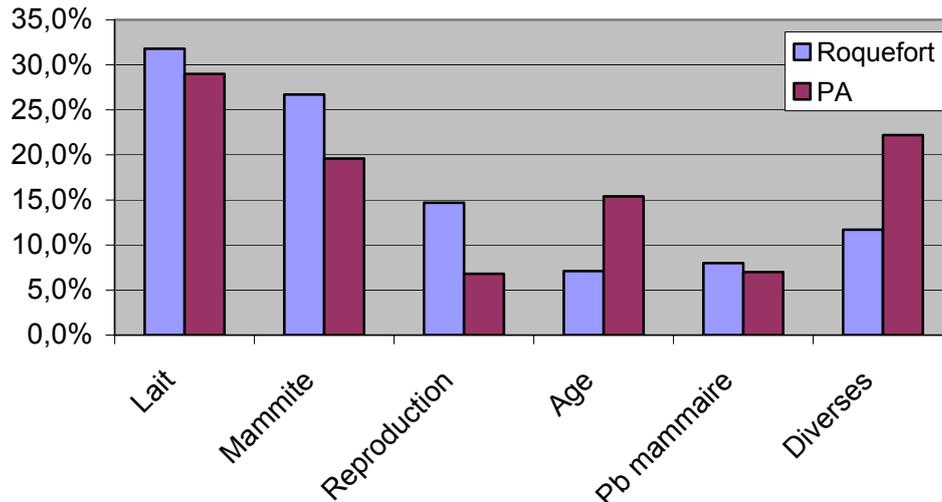


Figure 6. Causes de réforme des brebis dans les deux principaux bassins laitiers (Lagriffoul, 2003, données non publiées)

PA = Pyrénées-Atlantiques ; Pb mammaire = problème mammaire

D. Définition des cas de mammites cliniques

Dans cette étude, nous avons considéré que seules les « mammites cliniques » font l'objet de prélèvements en vue d'analyse bactériologique, dans le cas général. Les mammites cliniques sont définies comme les cas pathologiques caractérisés par la présence de symptômes locaux physiques (mamelle chaude, douloureuse, enflée, rouge, ...) ou fonctionnels (modification de l'aspect du lait), voire des symptômes généraux (cortège fébrile : fièvre, abattement, anorexie).

Les « mammites subcliniques », c'est-à-dire les infections intra-mammaires asymptomatiques et/ou élévations des comptages cellulaires, ne font pas partie de l'étude. Certains résultats d'analyses, portant visiblement sur des cas subcliniques, ont été exclus de l'étude. Par ailleurs, les résultats relatifs à des laits d'ovins de races allaitantes, de chèvres ou de vaches n'ont pas été considérés.

Tous les résultats dont le type de prélèvement (lait, organe) ou l'espèce animale étaient non renseignés ou équivoques n'ont pas été retenus pour l'étude. Ont été également écartés les résultats provenant de laits de mélange.

Nos résultats portent donc uniquement sur les mammites cliniques des brebis laitières (en phase d'allaitement ou de traite exclusive).

E. Réalisation des prélèvements

Les prélèvements furent réalisés par les vétérinaires de l'élevage ou par les éleveurs eux-mêmes, exceptionnellement par le personnel des laboratoires. La technique de prélèvement peut donc varier d'un cas à l'autre, en particulier en matière de précautions aseptiques.

Nous rappelons ici la méthode d'un prélèvement aseptique de lait :

Théoriquement, les prélèvements de lait sont effectués à partir de l'hémi-mamelle atteinte. Les premiers jets de lait sont écartés et les trayons sont désinfectés avec de l'alcool à 70° avant le prélèvement dans des tubes stériles.

Les prélèvements sont transmis aux laboratoires pour analyse sous couvert du froid positif le plus rapidement possible.

F. Technique d'analyse au laboratoire A

1. Réception au laboratoire

Le prélèvement peut arriver par la Poste, être apporté par le client ou le vétérinaire.

2. Analyse bactériologique

a) Ensemencement

L'ensemencement se déroule successivement à deux moments :

◆ A J=0, le jour de réception du prélèvement

Une première goutte de lait (soit approximativement 50 µl) est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur puis étalée sur une gélose colombiana au sang (CS).

Une deuxième goutte de lait est étalée sur une gélose colombiana au sang contenant de l'acide nalidixique (ANC) pour sélectionner les bactéries Gram +.

Un bouillon d'enrichissement « brain heart infusion » (BHI) est ensemencé avec 300 µl de lait.

Le tout est mis à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures sous atmosphère contrôlée avec un taux de dioxyde de carbone de 7%.

◆ A J=1

Dans tous les cas de figure, on procède comme suit : une nouvelle gélose CS est ensemencée à l'aide d'une goutte du bouillon BHI ensemencé la veille. La gélose est ensuite placée à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures sous atmosphère contrôlée avec un taux de dioxyde de carbone de 7%.

Deux cas sont alors possibles :

- les primo-cultures sont positives ; on repique sur gélose identique pour obtenir des souches bactériennes pures.
- les primo-cultures sont négatives. La lecture est renouvelée à J=2.

b) Lecture :

La lecture effectuée à J=2 a été réalisée soit à partir des géloses ensemencées à J=0 et restées à l'étuve 24 heures supplémentaires après repiquage, soit à partir des géloses ensemencées à partir du bouillon d'enrichissement BHI. Ce dernier est repiqué si un trouble a été observé.

Si ces géloses n'ont pas autorisé la croissance de colonies bactériennes, le résultat est alors directement prononcé : « Culture négative ».

La lecture pour identification des bactéries est réalisée à J3.

L'aspect visuel des colonies donne une première idée du type de bactérie présente sur le milieu de culture.

Ensuite, une coloration de Gram est réalisée de manière systématique. Enfin, des tests enzymatiques permettent d'orienter l'identification. Ainsi, les tests suivants sont réalisés :

- Pour les bactéries Gram + :

le test à la catalase est réalisé à l'aide d'eau oxygénée à 10 volumes. Si du gaz se dégage, le test est prononcé positif. Dans le cas contraire, il est prononcé négatif.

- Pour les bactéries Gram - :

le test d'oxydase est réalisé à l'aide d'un test rapide Oxydase Reagent: plusieurs colonies sont étalées sur la partie réservée à cet effet, le test est positif si la plage de lecture prend une coloration foncée ; dans le cas contraire, il est prononcé négatif.

Tableau 4: Genres bactériens en fonction des résultats aux tests biochimiques.

Gram +			Gram -	
Catalase +	Catalase +/-	Catalase -	Oxydase +	Oxydase -
<i>Staphylococcus</i>	<i>Arcanobacterium</i>	<i>Streptococcus</i>	- <i>Mannheimia</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Pasteurella...</i>	
		<i>Aerococcus...</i>	- <i>Pseudomonas...</i>	

c) Identification

L'identification est systématiquement réalisée sur toutes les colonies isolées, quel qu'en soient leur nombre ou leur type.

Elle est réalisée à l'aide de galeries d'identification API (Bio Mérieux). Selon les résultats aux tests de lecture précédents, des galeries différentes sont employées :

Tableau 5: Galeries d'identification utilisées en fonction des résultats aux tests biochimiques (laboratoire A).

Gram +			Gram -	
Catalase +	Catalase +/-	Catalase -	Oxydase +	Oxydase -
- API 20 Staph	Tube de Loeffler	R 32 Strep	API 32 NE	API 20 E
- Test de la coagulase sur sérum de lapin (réalisé systématiquement)				RAPIID 32 E

Après inoculation, les galeries sont mises à incuber à l'étuve à la température de 37°C :

- ◆ pour les galeries normales, pendant 18 à 24 heures.
- ◆ pour les galeries rapides, pendant 4 heures.

d) Restitution du résultat

Selon les résultats des diverses cupules des galeries, un code est donné. Ce code correspond à un taxon bactérien selon la base de données API. La version du logiciel API utilisé est la suivante : 3.2.2 copyright 1990.

3. Recherche mycologique

Lors de demande de recherche mycologique, le protocole suivant est employé :

1. L'ensemencement se fait sur une gélose de Sabouraud avec du chloramphénicol.
2. L'incubation se fait à 30°C pendant 48 à 72 heures.
3. L'identification se fait par observation des filaments au microscope pour confirmer la présence du champignon et la coloration verte en étoile sur la boîte de Pétri. Pour l'identification des levures, une galerie API ID 32 C est ensemencée.
4. On donne le résultat sous la forme *Aspergillus fumigatus* par exemple.

4. Présentation des résultats

Les résultats nous ont été présentés sous la forme des feuilles de résultats accompagnées des feuilles de paillasse des techniciennes.

G. Technique d'analyse au laboratoire B

1. Réception au laboratoire

Le prélèvement peut arriver par la Poste, être amené par le client ou le vétérinaire.

2. Analyse bactériologique

a) Ensemencement

- ◆ A J=0, le jour de réception du prélèvement

Une première goutte de lait (soit approximativement 50 µl) est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur puis étalée sur une gélose colombia au sang (CS).

Une deuxième goutte de lait est étalée sur une gélose colombia au sang contenant de l'acide nalidixique (ANC) pour sélectionner les bactéries Gram +.

Une troisième goutte est étalée sur une gélose Hektoen (H) ou SMID pour sélectionner les entérobactéries.

Deux bouillons d'enrichissement sont préparés :

- un bouillon d'enrichissement au thioglycolate (T) est ensemencé avec 500 µl de lait
- un bouillon d'enrichissement au sélénite (S) qui permet la sélection des bactéries Gram -.

Le tout est mis à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures sous atmosphère ordinaire.

◆ A J=1

Dans tous les cas de figure, on procède comme suit : une gélose CS est ensemencée à l'aide d'une goutte (volume de la valeur d'une oese) à partir du bouillon T ensemencé la veille ; une gélose Hektoen est ensemencée à partir du bouillon S. Les géloses sont ensuite placées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures sous atmosphère contrôlée avec un taux de dioxyde de carbone de 7%.

Deux cas sont alors possibles :

- les primo-cultures sont positives ; on passe alors à la phase de lecture.
- les primo-cultures sont négatives. La lecture est différée à J=2.

b) Lecture

La lecture effectuée à J=2 a été réalisée soit à partir des géloses ensemencées à J=0 et qui auront été à l'étuve 24 heures supplémentaires, soit à partir des géloses ensemencées à partir des bouillons d'enrichissement T et S.

Si ces dernières n'ont pas autorisé la croissance de colonies bactériennes, le résultat est alors directement prononcé : « Culture négative ».

L'aspect des colonies donne une première idée du type de bactérie présente sur le milieu de culture.

Ensuite, on pratique une coloration de Gram réalisée de manière systématique. Enfin, des tests enzymatiques permettent d'orienter l'identification. Ainsi, les tests suivants sont réalisés :

- *Pour les bactéries Gram + :*

le test à la catalase est réalisé à l'aide du test ID Color catalase : on dépose une goutte du réactif sur une lame sans faire de bulles et on y mélange plusieurs colonies avec une oese ; le test est positif si le mélange engendre une mousse blanche. Dans le cas contraire, il est prononcé négatif.

- *Pour les bactéries Gram - :*

le test d'oxydase est réalisé à l'aide d'un test rapide BBL Dryslide : plusieurs colonies sont étalées sur la partie réservée à cet effet, le test est positif si la plage de lecture prend une coloration foncée ; dans le cas contraire, il est prononcé négatif.

c) Identification

Elle est systématique quelque soit le nombre de colonies présentes.

Elle se fait à l'aide de galeries de type API (Bio Mérieux). Selon les résultats aux tests de lecture précédents, des galeries différentes sont employées (cf. Tableau 6).

Ces galeries sont mises à incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Tableau 6. Galeries d'identifications utilisées en fonction des résultats aux tests biochimiques (laboratoire B).

Gram +			Gram -	
Catalase +	Catalase +/-	Catalase -	Oxydase +	Oxydase -
- Slide test - Si négatif seulement : API 20 Staph	API Coryne	API 32 Strep	API NE 32	API 20 E

d) Restitution du résultat

Selon les résultats des diverses cupules de la galerie un code est fourni. Ce code correspond à un taxon bactérien selon la base de données API.

Cependant, pour des espèces proches, le système API ne peut faire la différence, on reporte alors le nom des deux possibilités d'espèces comme résultat.

3. Recherche mycologique

L'ensemencement se fait sur deux géloses de Sabouraud : une ordinaire et une supplémenté en chloramphénicol.

L'incubation se fait à 30°C pendant 48 à 72 heures.

L'identification se fait à l'aide d'une galerie API CAUX (20 ou 32) pour les levures. Pour le genre *Aspergillus*, on observe les filaments au microscope pour confirmer la présence du champignon.

N.B. : pour les champignons du genre *Aspergillus*, l'identification de l'espèce n'est pas réalisée. Le résultat est rendu sous la forme : *Aspergillus* spp. .

4. Présentation des résultats

Les résultats nous ont été présentés sous la forme des feuilles de résultats accompagnées des feuilles de paillasse des techniciennes.

H. Acquisition des données

1. Formes des données

Au sein des deux laboratoires, les analyses diverses sont regroupées par pôle d'activité. Les prélèvements de laits sont analysés par le service de bactériologie vétérinaire. L'archivage des résultats est également réalisé par service. L'acquisition des données a donc été effectuée manuellement par la lecture systématique des feuilles de résultats d'analyses obtenues par le service de bactériologie vétérinaire. Cette étude regroupe les résultats bactériologiques et d'antibiogrammes des 8 dernières campagnes laitières (de janvier 1998 à juillet 2005) pour le laboratoire A et des 6 dernières campagnes laitières (d'octobre 1999 à juillet 2005) pour le laboratoire B.

2. Création d'un fichier informatique de données

Pour chaque laboratoire, un fichier informatique est réalisé sous la forme d'un tableur Excel (Microsoft). Une convention de confidentialité a été signée avec chacun des laboratoires.

Pour chaque lait analysé, sont saisis :

- ◆ un numéro d'ordre (attribution arbitraire dans l'ordre des résultats)
- ◆ la date de prélèvement (si renseignée)
- ◆ la date de réception du prélèvement
- ◆ l'élevage de provenance (Numéro INSEE, Nom de l'éleveur, Adresse)
- ◆ le numéro de référence interne au laboratoire, identifiant le résultat
- ◆ le numéro de la brebis prélevée (si renseigné), généralement numéro de travail de l'animal
- ◆ le résultat de l'analyse bactériologique
- ◆ des remarques éventuelles
- ◆ le résultat de l'antibiogramme (si réalisé)

Concernant le résultat de l'analyse bactériologique, toutes les données sont relevées, sans aucune interprétation : le nom de genre et le nom d'espèce de la (des) bactérie(s) isolée(s) du prélèvement.

Les antibiogrammes sont relevés avec les trois niveaux d'interprétation selon l'interaction antibiotique/bactérie: sensible, intermédiaire et résistant. La présente thèse ne traite que les résultats bactériologiques, sans les antibiogrammes.

3. Mise en forme de la synthèse des résultats

Une mise en forme des données brutes fut nécessaire avant son exploitation statistique.

Quatre champs de données furent ajoutés à chaque prélèvement :

- ◆ un champ 'Campagne' correspondant au numéro de campagne laitière au cours duquel le prélèvement fut réalisé. Les campagnes se déroulent du 1^{er} octobre au 30 septembre de l'année suivante. Par exemple, la campagne 2000 s'est déroulée du 1^{er} octobre 1999 au 30 septembre 2000.

- ◆ un champ ‘Numéro animal’ correspondant au numéro d’identification de l’animal (numéro à 6 chiffres).
- ◆ un champ ‘Codif Bactério’ comportant un numéro associé de manière unique à chaque espèce de bactérie isolée (exemple : le numéro 3 correspond à un isolement de *Staphylococcus aureus*).
- ◆ un champ ‘Codif résultat’ correspondant à une première étape d’interprétation du résultat de l’analyse bactériologique. Il est renseigné par un code chiffré. Trois cas peuvent se présenter :
 - le prélèvement a conduit à l’isolement d’une seule espèce de bactérie. Le code du résultat est égal au code de l’espèce bactérienne isolée.
 - le prélèvement a conduit à l’isolement de deux espèces de bactérie. Le résultat est codifié sous le code ‘99’, correspondant à une co-infection
 - le prélèvement a conduit à l’isolement de trois espèces (ou plus) de bactérie. Le résultat est codifié sous le code ‘98’, correspondant à un résultat polybactérien ininterprétable : ‘contaminé’.

I. Traitement des données

1. Découpage des résultats en groupes bactériens

Afin de présenter les résultats d’une façon homogène, les résultats d’analyse de laits de mammite ont été répartis au sein de grands groupes bactériens (cf. Figure 7).

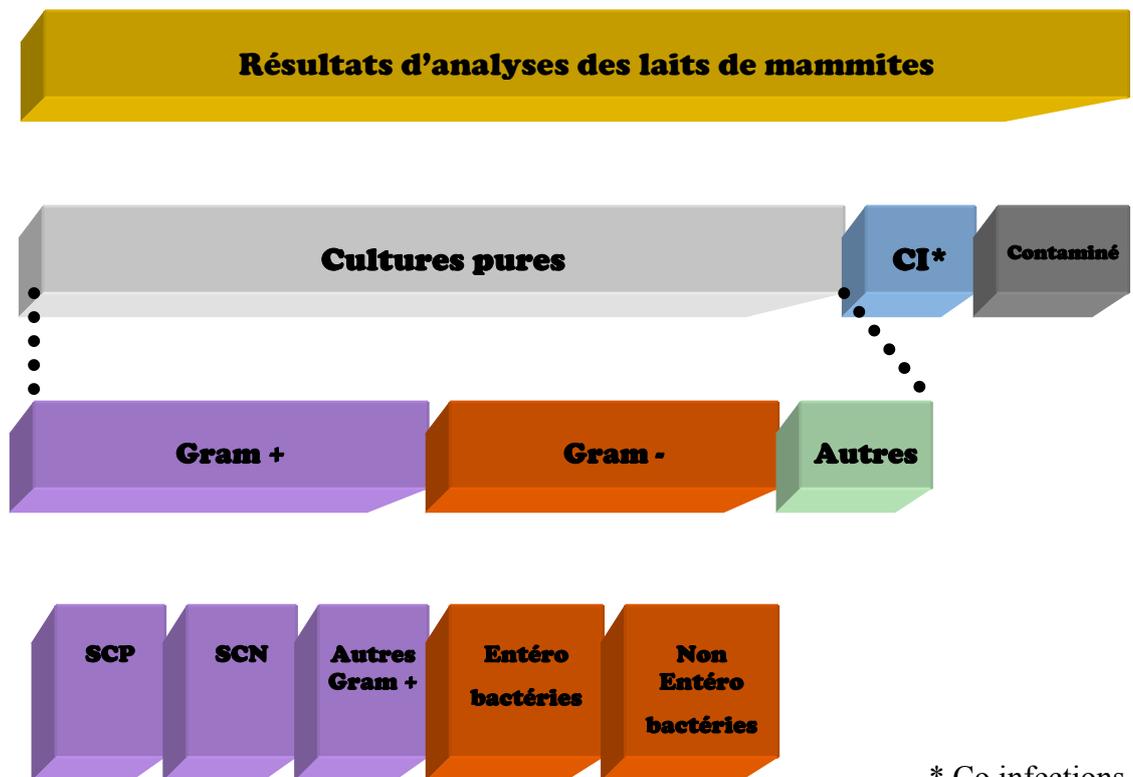


Figure 7. Tri des résultats selon l'appartenance aux grands groupes bactériens.

SCP = staphylocoque à coagulase positive ; SCN = staphylocoque à coagulase négative

Un résultat d'analyse peut, en premier lieu, être classé au sein de l'une des catégories suivantes :

- culture pure (isolement mono-bactérien)
- co-infection (2 germes différents isolés)
- contaminé (3 germes isolés ou plus).

Au sein des cas d'isollements mono-bactériens, un classement en bactéries Gram+, Gram – et « autres » a été mis en place, puis pour plus de précision des sous-groupes au sein de ce découpage ont été créés.

- Au sein des Gram+, on a distingué :
 - les staphylocoques à coagulase positive
 - les staphylocoques à coagulase négative identifiés et non identifiés avec précision
 - les « Autres » : regroupant les genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Arcanobacterium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus* et *Listeria*.
- Au sein des Gram -, on a distingué :
 - les Entérobactéries avec les coliformes et les non coliformes (*Serratia*,...)
 - les Non-entérobactéries avec les *Pasteurellaceae* (*Mannheimia*, *Pasteurella*, ...) et les *Pseudomonas*.

2. Traitement informatique

L'ensemble des données a été saisi dans un fichier tableur unique sous Microsoft Excel® 2003.

La synthèse des données (somme et calculs de moyenne) a été réalisée à l'aide de l'outil « Tableaux et graphes croisés dynamiques » de Microsoft Excel 2003 (Microsoft).

Les graphes sont réalisés à l'aide de l'outil graphique de Microsoft Excel 2003 (Microsoft).

III. Résultats

A. Principaux germes isolés

1. Présentation générale

a) Prélèvements

Tous laboratoires confondus, cette étude regroupe 239 résultats bactériologiques qui ont été produits durant les huit dernières campagnes laitières (de janvier 1998 à juillet 2005). Les prélèvements proviennent de 111 élevages différents.

Au cours des huit dernières campagnes, deux prélèvements de lait par élevage ont été reçus, en moyenne, pour analyse bactériologique. Les laits sont généralement reçus au cours de la même campagne (cf. Tableau 7). Seuls quatre élevages ont demandé des analyses de lait durant deux campagnes distinctes.

Tableau 7. Statistiques descriptives par élevage

		Lab A*	Lab B*	Roquefort
Prélèvements / élevage	Moyenne	2,0	2,1	2,0
	Ecart type	1,4	1,5	1,4
	Max.	8,0	7,0	8,0
	Min.	1,0	1,0	1,0
Campagnes / élevage	Moyenne	1,0	1,0	1,0
	Ecart type	0,2	0,0	0,2
	Max.	2,0	1,0	2,0
	Min.	1,0	1,0	1,0

* Calculs réalisés sur les campagnes de 1998 à 2005 pour le laboratoire A et de 2000 à 2005 pour le laboratoire B

Parmi les 239 prélèvements, 199 ont été réalisés par 26 cabinets vétérinaires du rayon. Les 40 autres n'ont pu être rattachés à un cabinet vétérinaire particulier. Le nombre de prélèvements de lait de mammite réalisés par cabinet vétérinaire est visible à la Figure 8 ; en moyenne, il est de 7 prélèvements au cours des huit dernières campagnes laitières. Il faut noter que le cabinet vétérinaire A représente à lui seul près de 20 % des prélèvements avec 47 envois. Au cours des huit dernières campagnes laitières, la majorité des cabinets vétérinaires ont envoyé moins de cinq prélèvements de lait issu de mammite clinique ovine (cf. Figure 9).

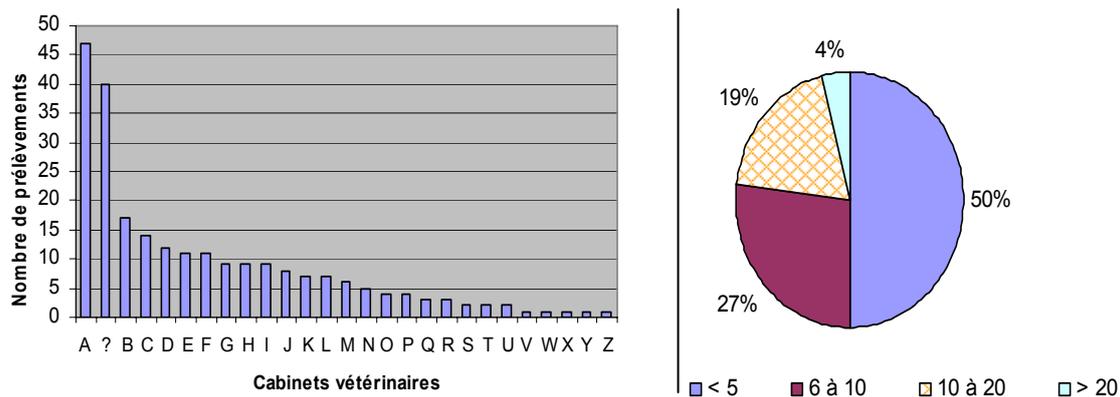


Figure 8. (à gauche) Nombre de prélèvements de lait de mammite réalisés par cabinet vétérinaire au cours des 8 dernières campagnes laitières

Figure 9. (à droite) Répartitions des cabinets vétérinaires selon le nombre de prélèvements réalisés au cours de l'étude (8 campagnes laitières)

(? = champ « préleveur » non renseigné)

b) Isolements

La Figure 10 présente les fréquences des principaux types de résultats obtenus à partir de laits de mammites cliniques.

Sur les 239 prélèvements analysés, un état de co-infection (deux agents pathogènes différents isolés) a été décelé dans 22,2 % des cas. Des prélèvements ont été considérés « contaminés » (plus de 2 types bactériens isolés) dans 11,7 % des cas. Vingt-trois prélèvements ont conduit au résultat « culture négative », soit 9,6 % en moyenne pour les laboratoires A et B (aucune culture bactérienne ou fongique possible après 48h d'étuve, cf. II.F.2.b)).

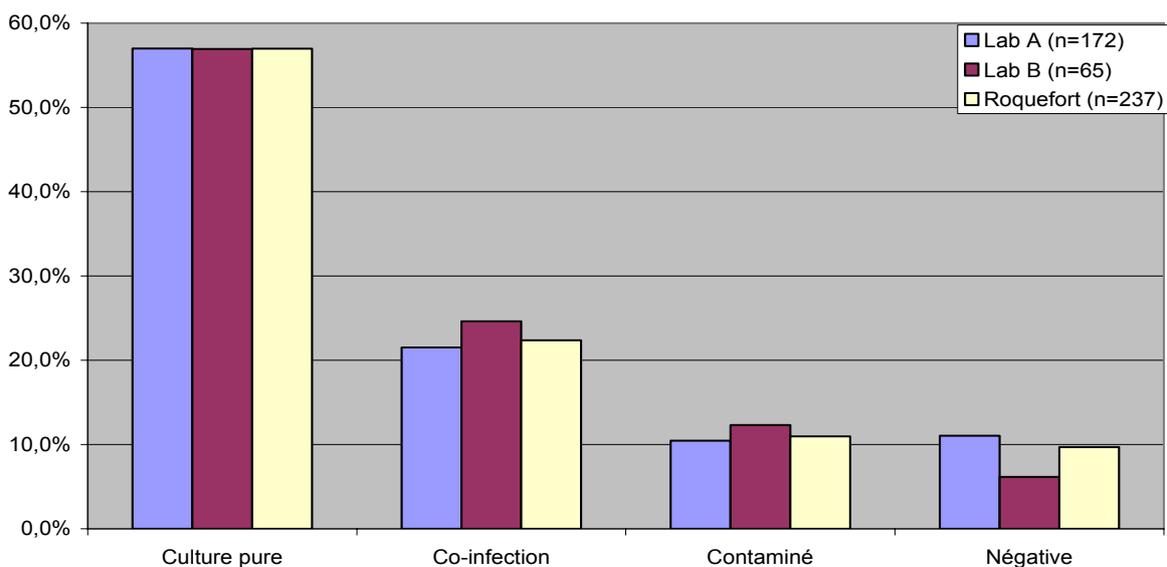


Figure 10. Fréquence des principaux types de résultats obtenus à partir de laits de mammites cliniques.

Contaminé = au moins 3 types de colonies

c) Les germes isolés

Le détail des cultures pures obtenues dans 56,5 % des cas est présent à la Figure 11. Parmi les cultures pures (n=135), les bactéries Gram positives ont été isolées majoritairement dans près de deux cas sur trois (66,7 %). Des bactéries Gram négatives ont été isolées dans 12,6 % des cas. La catégorie « Autres » (20,7 % des cas de cultures pures) regroupe les champignons et levures (*Aspergillus* spp. et *Candida* spp.). Cependant, au sein de cette catégorie, le genre *Aspergillus* a été isolé dans 96,3 % (n=27) des cas. Un seul cas de mammite à *Candida* spp. a été observé.

L'ensemble de ces résultats est présenté aux Figure 11 et Figure 12.

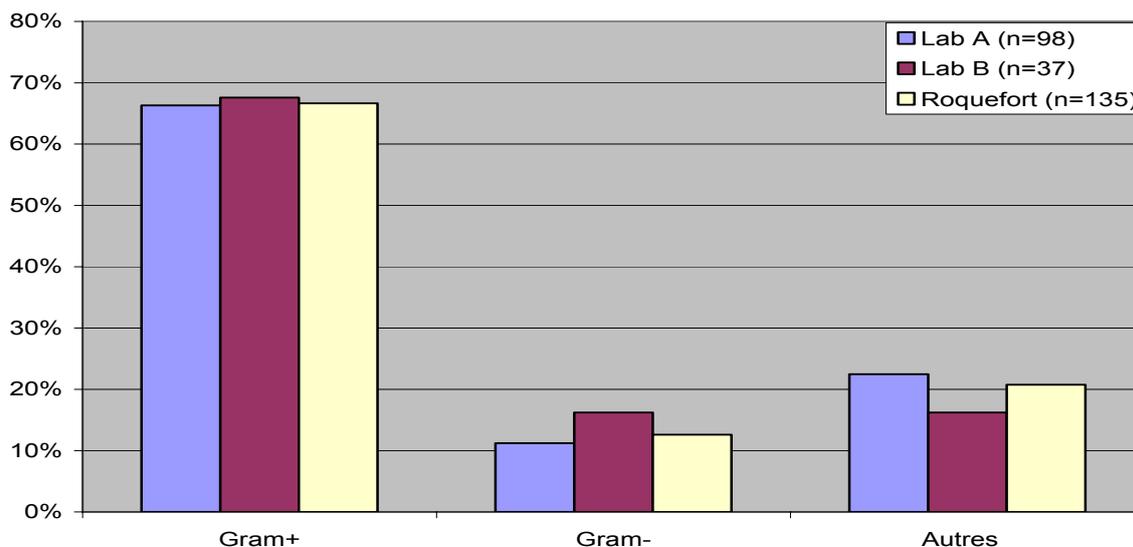


Figure 11. Fréquence relative des principaux groupes de germes isolés de cultures pures lors de mammites cliniques dans les différents laboratoires et pour les deux réunis (Roquefort).

Autres = champignons et levures.

En tenant compte de l'ensemble des cultures pures obtenues, les germes les plus fréquemment isolés à partir de laits de mammites cliniques sont les staphylocoques à coagulase négative (SCN) dans 30,4 % des cas et *Staphylococcus aureus* dans 28,1 % des cas. Ces résultats sont regroupés à la Figure 12.

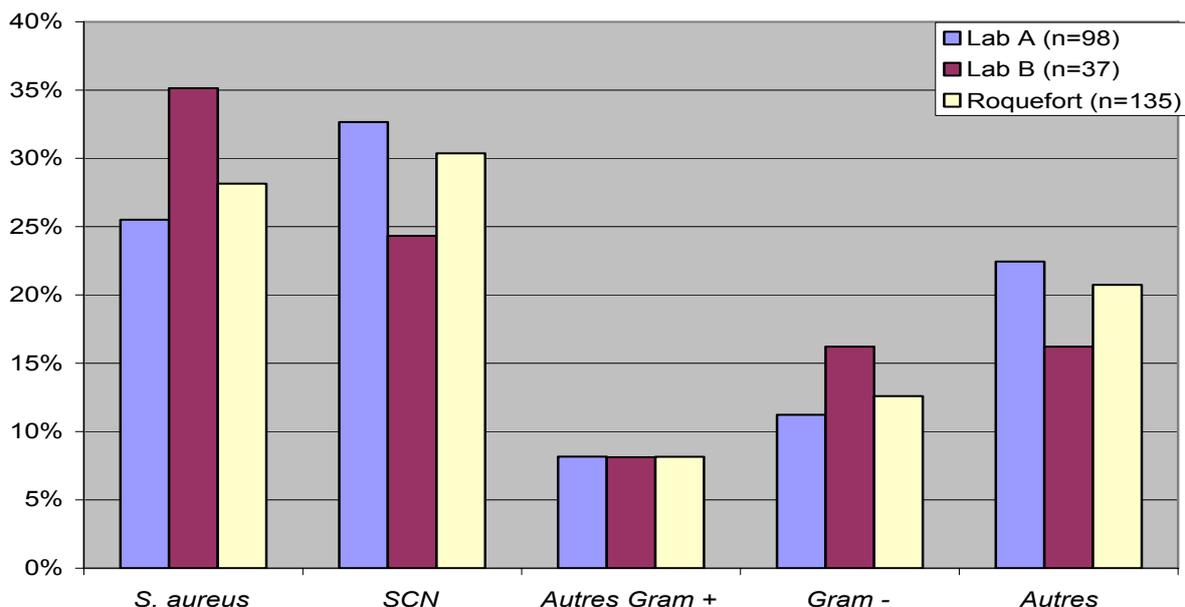


Figure 12. Fréquence des principaux groupes de germes isolés de cultures pures lors de mammites cliniques dans les différents laboratoires et pour les deux réunis (Roquefort).

SCN = Staphylocoque à coagulase négative ; Autres = champignons et levures.

La forte prévalence des SCN est accentuée si l'on considère l'ensemble des bactéries isolées, issues de cultures pures et de co-infections et non uniquement les cultures pures. Ceci est visible à la Figure 13. Ainsi, les SCN représentent près du tiers des isolats (33,6 %). Ils devanent *Staphylococcus aureus* identifié dans 19,5 % des isolats.

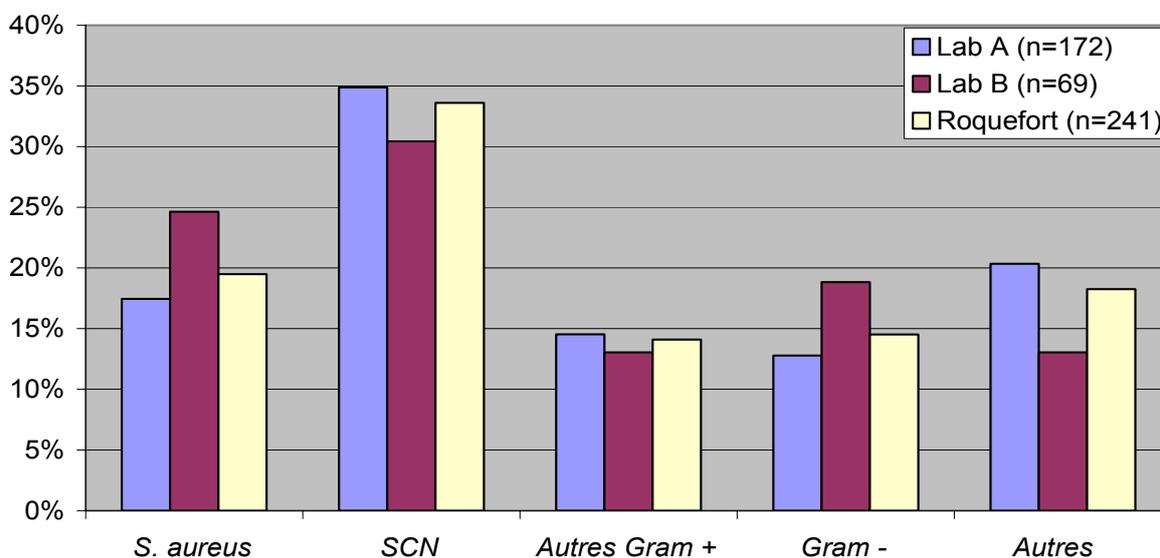


Figure 13. Fréquence des principaux groupes de germes issus de cultures pures et de co-infections lors de mammites cliniques dans les différents laboratoires et pour les deux réunis (Roquefort).

SCN = Staphylocoque à coagulase négative ; Autres = champignons et levures.

2. Germes Gram positifs

a) Staphylocoques

Pour le laboratoire A, parmi les germes Gram positifs isolés de cultures pures, on retrouve plus fréquemment des SCN (49,2 % des cas), puis des *S. aureus* (dans 38,6 % des cas) et enfin d'autres bactéries Gram+ (12,3 % des cas).

Par contre, pour le laboratoire B, parmi les germes Gram positifs isolés de cultures pures, les isolations ont conduit à identifier préférentiellement *S. aureus* (dans 38,6 % des cas), des SCN (49,2 % des cas) et enfin d'autres bactéries Gram+ dans des proportions équivalentes au laboratoire A (12,0 %).

Cependant, en moyenne (Série Roquefort sur les diverses figures), on retrouve dans des proportions équivalentes *S. aureus* et SCN, respectivement dans 42,2 % et 45,8 % des isolats de bactéries Gram + issus de cultures pures (cf. Figure 14).

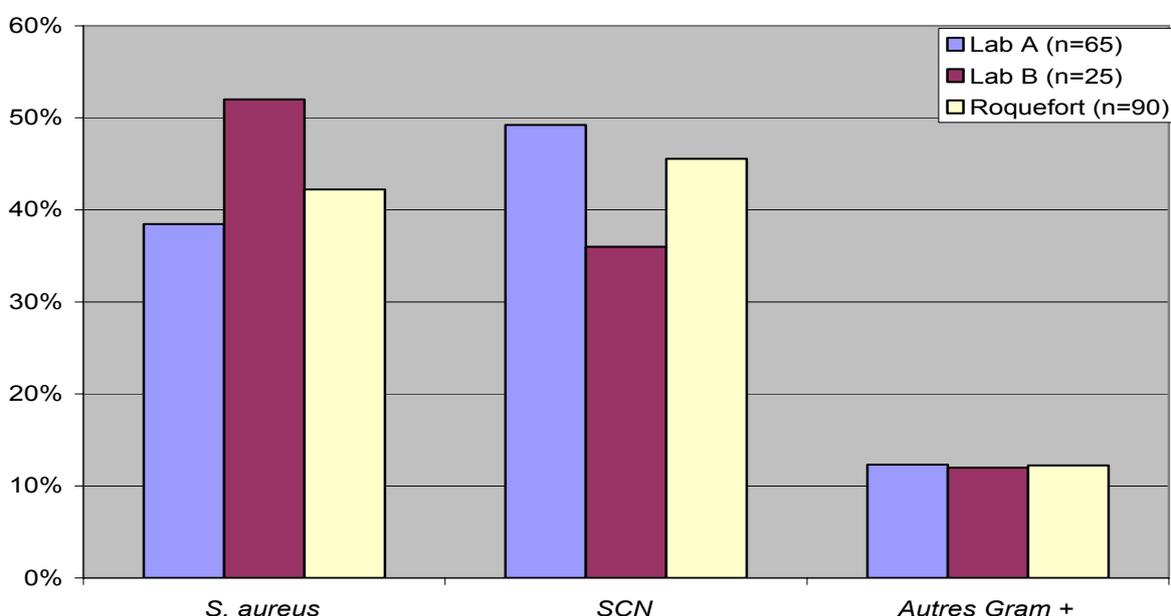


Figure 14. Fréquence relative des principaux groupes bactériens Gram+ isolés de cultures pures lors de mammites cliniques dans les différents laboratoires et sur les deux réunis (Roquefort).

SCN = Staphylocoque à coagulase négative.

La différence entre les prévalences de *S. aureus* et des SCN est accentuée si l'on considère l'ensemble des bactéries identifiées (bactéries issues de cultures pures et des co-infections). Ainsi, parmi les bactéries Gram positif, les SCN représentent la moitié des isolats (50 %). Ils devançant *Staphylococcus aureus* identifié dans 29 % des isolats. Parmi les 111 élevages inclus dans l'étude, *S. aureus* a été isolé dans 31 élevages (soit 27,9 %) et les SCN dans 35 élevages (soit 31,5 %).

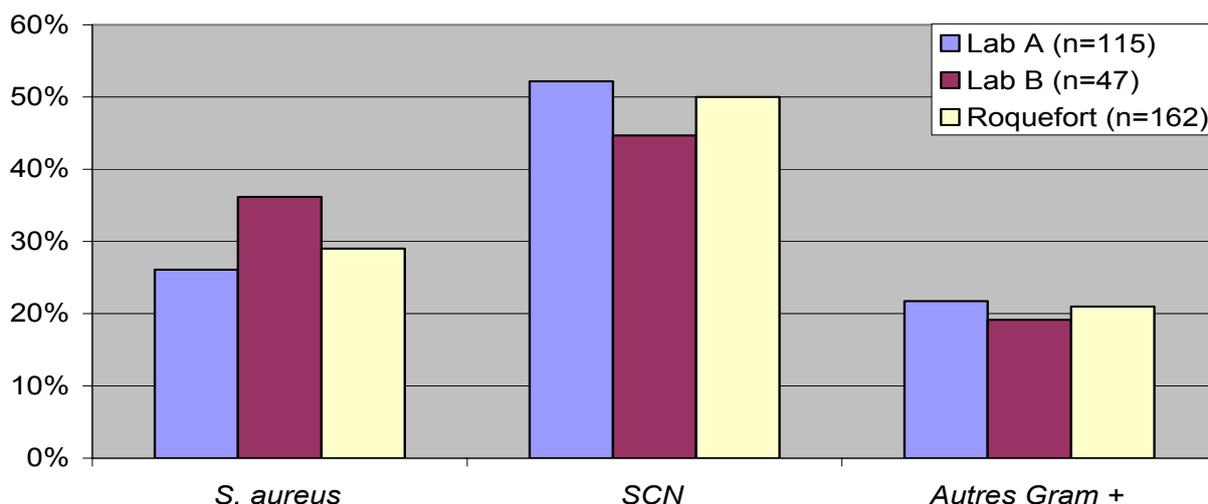


Figure 15. Fréquence relative des principaux groupes bactériens Gram+ isolés lors de mammites cliniques dans les différents laboratoires et pour les deux réunis (Roquefort) parmi les cultures pures et les co-infections.

SCN = Staphylocoque à coagulase négative.

Au sein des deux laboratoires, *Staphylococcus epidermidis* paraît être l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée parmi les SCN (33,1 % et 44,4 % respectivement, soit 34,1 % des SCN en moyenne). Il a été identifié dans 9 élevages, soit dans 8,1 % des élevages. Ensuite, on retrouve les souches de SCN dont l'identification d'espèce n'a pu être obtenue (SCN non identifiable) dans 25,0 % et 22,2 % pour les laboratoires A et B respectivement, soit 24,4 % des SCN en moyenne. Ils ont été isolés dans 10 élevages, soit dans 9 % des élevages. *S. xylosus* a été isolé, en moyenne, dans 14,6 % des prélèvements : 15,6 % et 11,1 % pour les laboratoires A et B, respectivement. Il a été identifié dans 6 élevages, soit dans 5,4 % des élevages. Les autres espèces de SCN isolés sont énumérées et représentées à la Figure 16.

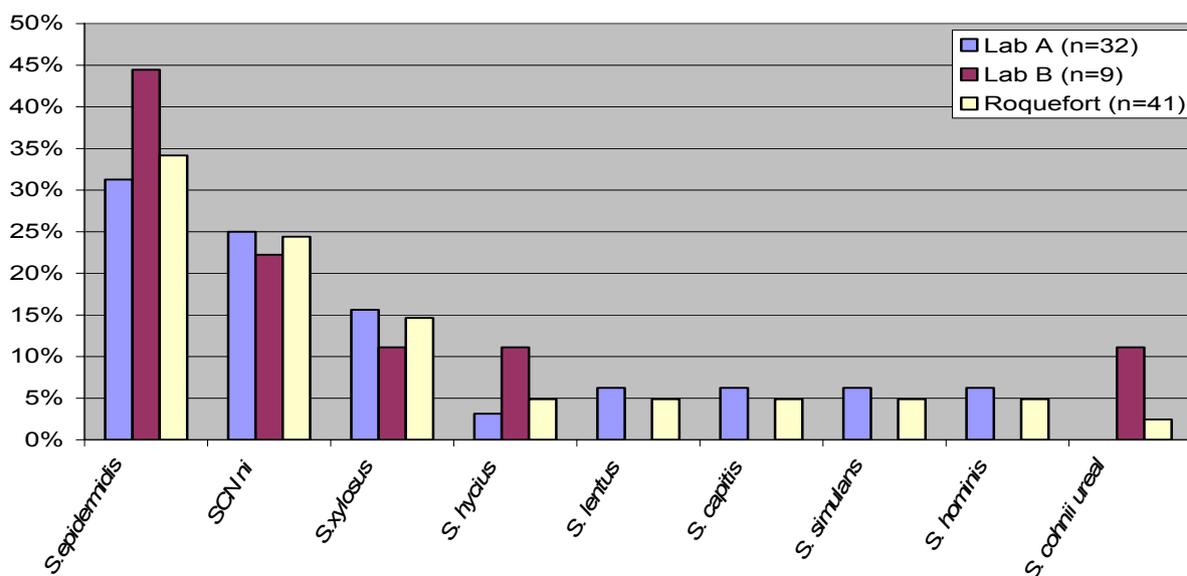


Figure 16. Fréquence relative des principaux groupes bactériens Gram+ isolés de cultures pures lors de mammites cliniques dans les différents laboratoires et pour les deux réunis (Roquefort).

SCN ni = Staphylocoque à coagulase négative non identifiable

b) Autres Gram +

Des bactéries appartenant au groupe « autres Gram+ » ont été isolées en moyenne dans 8,1 % des cultures pures, soit dans 11 cas répartis dans 11 élevages différents (cf. Tableau 8).

Au sein de ce groupe, les streptocoques du groupe D (à présent *E. faecium* et *E. faecalis*, appartenant au genre *Enterococcus*) sont représentés dans 4 cas sur 11 (36 %).

Arcanobacterium pyogenes a été isolé en culture pure à partir de 2 laits provenant de 2 élevages différents.

Streptococcus uberis, *Streptococcus equisimilis* et *Streptococcus mitis* ont également été isolés sporadiquement.

Tableau 8. Détails (en nombre de prélèvements) des germes de la catégorie « Autres Gram+ » isolés de mammites cliniques (cultures pures).

CULTURES PURES – AUTRES GRAM+	Lab A	Lab B	Roquefort	Nombre d'élevages
<i>Streptococcus equisimilis</i>		1	1	1
<i>Streptococcus mitis</i>	1		1	1
<i>Streptococcus uberis</i>		1	1	1
Streptocoque Groupe D	3	1	4	4
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	2		2	2
<i>Micrococcus</i> spp.	2		2	2
Total	8	3	11	11

3. Germes Gram négatifs

Parmi les cultures pures (n=135), les bactéries Gram négatives sont isolées dans 12,6 % des cas. Les groupes des entérobactéries et non entérobactéries sont isolés dans des proportions similaires au sein du bassin de Roquefort (47,1 % et 52,9 % respectivement). Cependant, ceci masque une grande disparité entre les deux laboratoires (cf. Figure 17) ; celle-ci apparaît difficilement interprétable du fait du faible nombre de cas décrits pour les laboratoires A et B (11 et 6, respectivement).

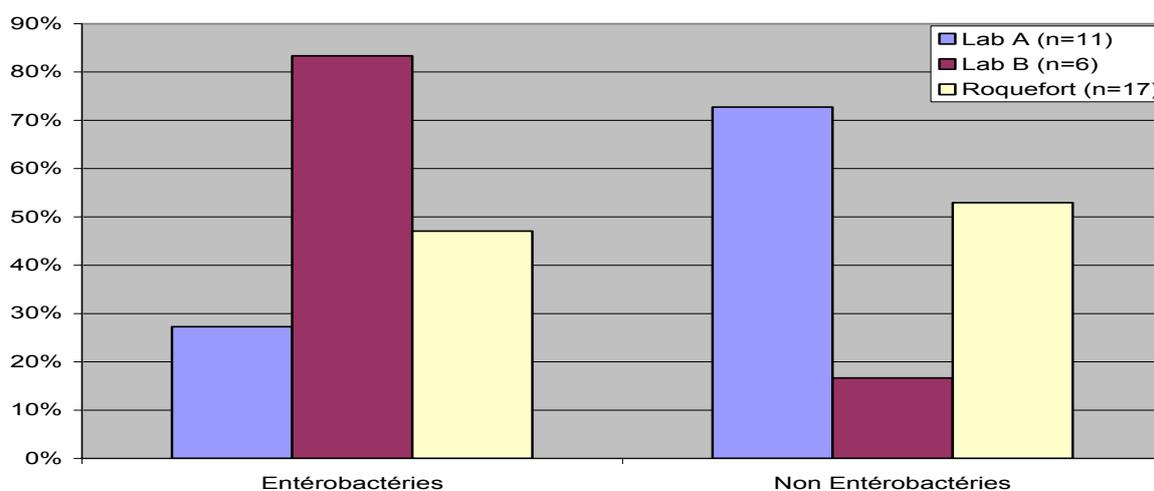


Figure 17. Fréquence des Entérobactéries au sein des bactéries Gram- isolées de cultures pures de mammites cliniques dans les différents laboratoires et pour les deux réunis (Roquefort).

La prévalence des différents agents pathogènes Gram négatif isolés de laits de mammites cliniques ovines apparait à la Figure 18. Le genre *Pseudomonas* est le plus fréquemment isolé (41,2 % des isolats Gram négatifs). On retrouve ensuite le genre *Serratia* (23,5 % des isolats Gram négatifs). Ces deux groupes représentent près de deux tiers des bactéries Gram négatif isolées.

Pseudomonas spp., *Serratia* spp., *E. coli* et *M. haemolytica* ont été isolés respectivement dans 4, 2, 3 et 1 élevage.

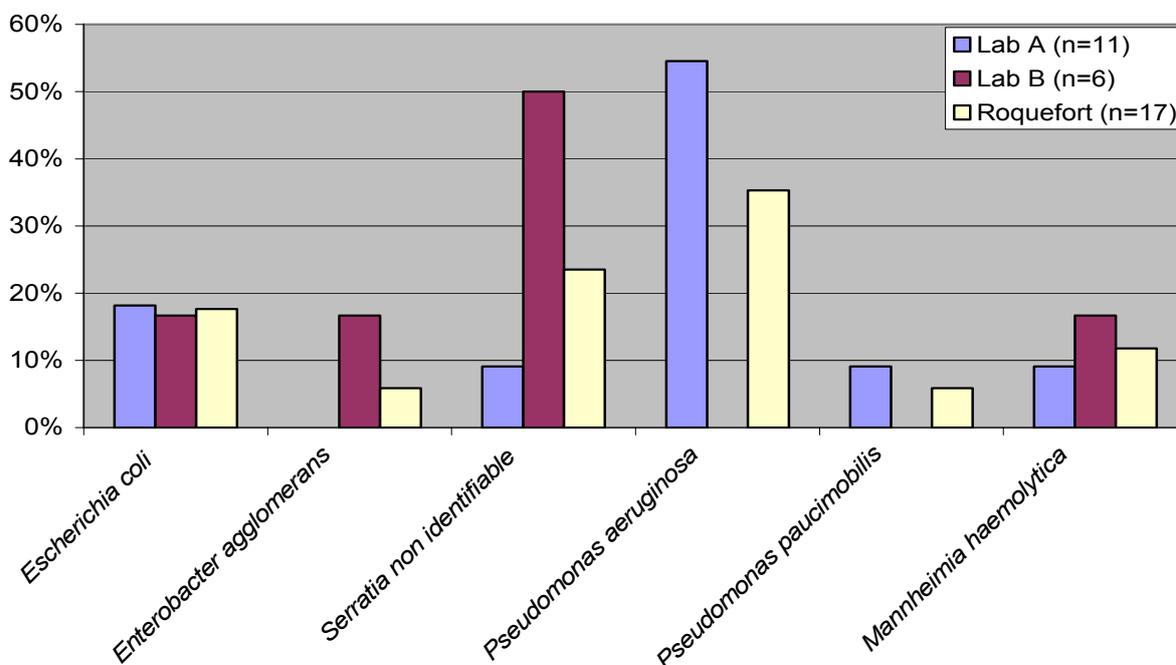


Figure 18. Fréquence relative des bactéries Gram- isolées de cultures pures lors de mammites cliniques au sein du bassin de Roquefort (deux laboratoires réunis).

4. Autres germes

La catégorie « Autres » (20,7 % des cas de cultures pures) regroupe les champignons et levures (*Aspergillus* spp. et *Candida* spp.). Cependant, au sein de cette catégorie, le genre *Aspergillus* a été isolé dans 96,3 % (n=27) des cas. Un seul cas de mammite à *Candida* spp. a été observé. Les nombres de cas isolés sont rassemblés au Tableau 9.

Tableau 9. Détails (en nombre de prélèvements) des germes de la catégorie « Autres » isolés de mammites cliniques (cultures pures).

CULTURES PURES - AUTRES	Lab A	Lab B	Roquefort	Nombre d'élevages
<i>Aspergillus fumigatus</i>	22	5	27	16
<i>Candida</i> spp.	0	1	1	1
Total	22	6	28	17

5. Co-infections

Un état de co-infection (deux agents pathogènes différents isolés) a été constaté dans 22,2 % des cas. Ainsi, 53 prélèvements ont conduit à l'isolement de 2 germes.

Le groupe des bactéries Gram positif est le plus représenté concernant les isollements lors de co-infection : 67,9 %.

La fréquence des isolats obtenus lors de co-infection à partir de mammites cliniques au sein du bassin de Roquefort est présentée à la Figure 19.

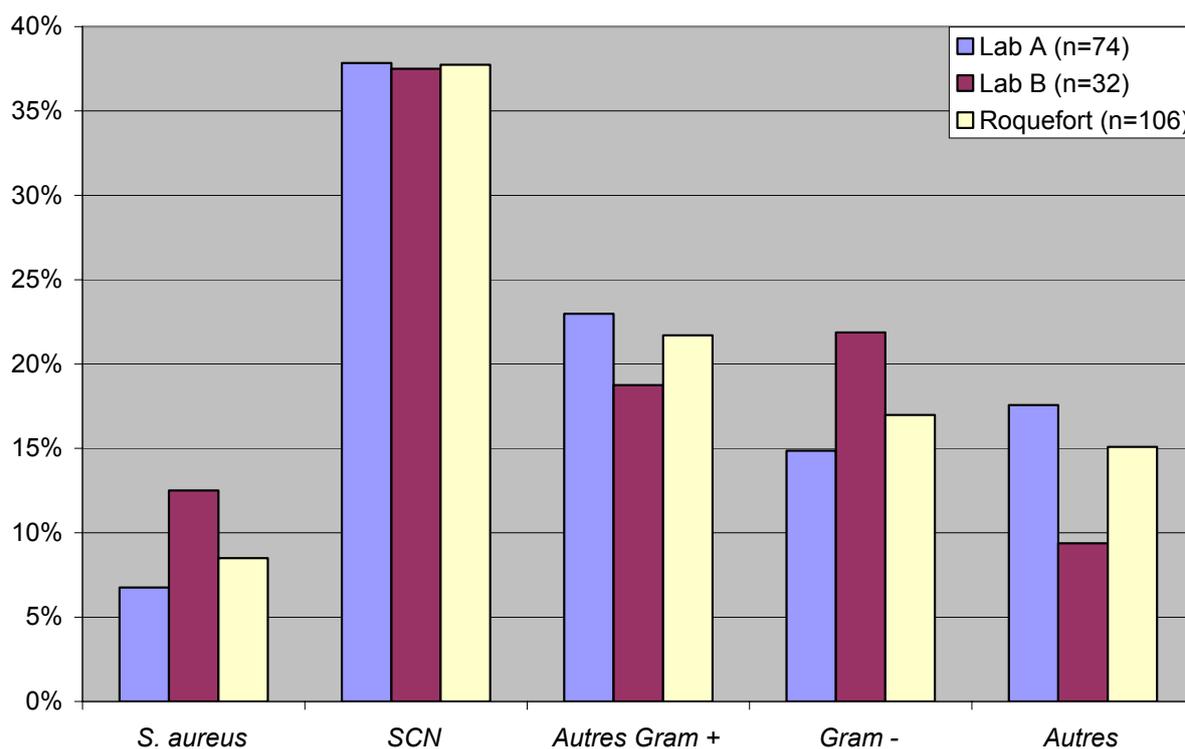


Figure 19. Fréquence des isolats obtenus lors de co-infection à partir de mammites cliniques au sein du bassin de Roquefort (deux laboratoires réunis).

SCN= Staphylocoque à coagulase négative ; Autres = champignons et levures.

B. Influence du stade de lactation et de la campagne laitière

1. Influence du stade de lactation

a) Répartition des demandes d'analyses de lait au cours de la campagne

La répartition moyenne des analyses de lait au cours de la campagne est illustrée à la Figure 20. Il est remarquable que plus de la moitié des demandes d'analyses de lait (52,5 %) est réalisée en début de campagne entre les mois d'octobre et de janvier. Les demandes d'analyses sont réduites eu cours des mois de mai et de septembre (20 % des demandes).

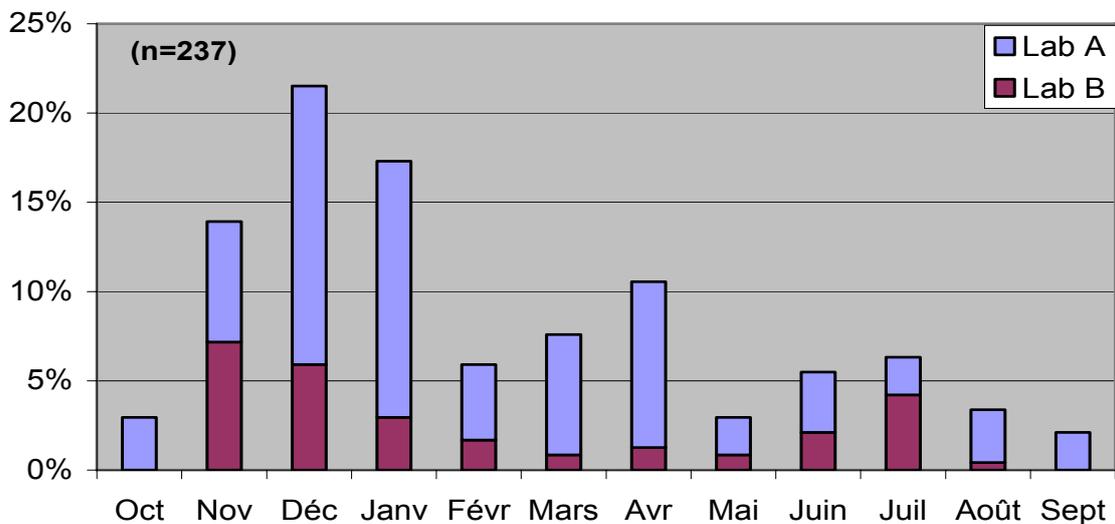


Figure 20. Répartition moyenne des envois de prélèvements au cours de la campagne.

b) Répartition des isolements au cours de la campagne

La répartition des isolements de germes responsables de mammites cliniques (cf. Figure 21) met en évidence deux périodes:

- une première vague de mammites donne lieu à des prélèvements en début de lactation (octobre à janvier). Elle représente 52,5 % de l'ensemble.
- une deuxième est constatée en mars-avril, probablement après la mise à l'herbe. Elle représente 19,6 % de l'ensemble.

Les mois d'août, septembre et octobre voient la fréquence des isolements diminuer.

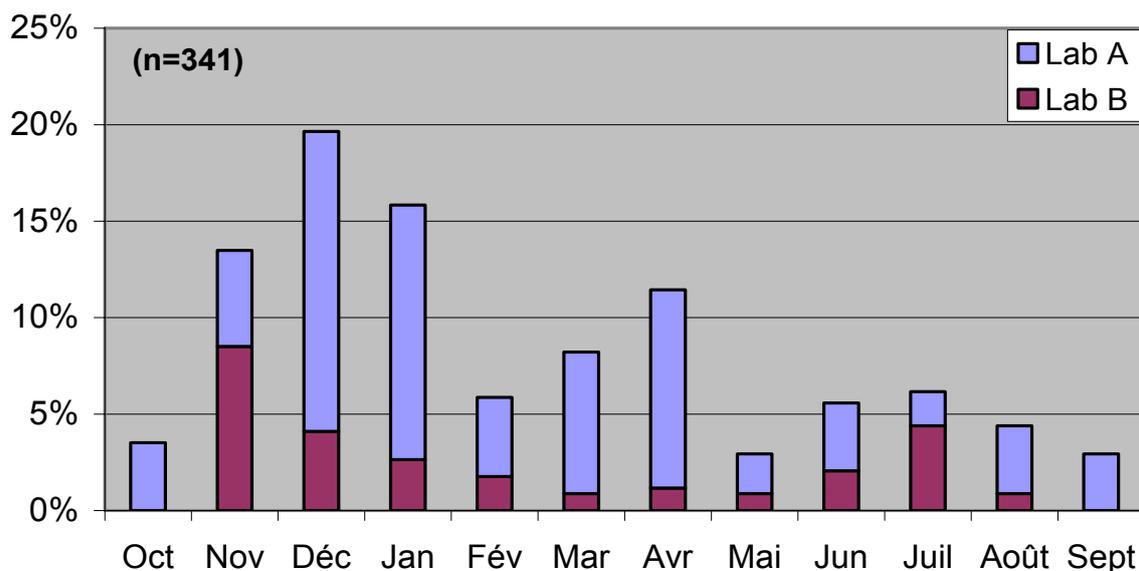


Figure 21. Répartition moyenne des isolements au cours de la campagne durant la période 1998-2005.

Il est également intéressant de s'attarder sur la répartition des isolements au cours de la campagne en fonction des principaux groupes de germes (cf. Figure 22). *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus fumigatus* sont étudiés séparément en raison de leur importance dans les mammites cliniques au sein du bassin de Roquefort.

c) Evolution de la fréquence d'isolement des principaux groupes de germes au cours de la campagne

On note qu'en début de campagne la fréquence d'isolement est assez élevée pour tous les groupes principaux de germes.

Les 38 souches de *Staphylococcus aureus* (culture pure) isolées se répartissent entre les mois de novembre et de mai. La fréquence d'isolement la plus élevée est atteinte aux mois de décembre-janvier. Cinquante pour cent des isolats de *Staphylococcus aureus* sont obtenus durant ces deux mois de la campagne. Il faut également noter l'augmentation régulière de la fréquence d'isolement de *Staphylococcus aureus* au cours des premiers mois de traites : en moyenne, 5,3 % des isolements de *Staphylococcus aureus* sont réalisés au mois de novembre, 21,1 % en décembre, pour atteindre 31,6 % en janvier (cf. Figure 22).

La fréquence d'isolement des SCN ne semble pas attachée à une période précise de la campagne. Cependant, ils apparaissent dans la première moitié de campagne : la période de décembre à avril regroupe près de trois-quarts des isolements (75,6 %).

Concernant les germes Gram négatifs, deux périodes se distinguent aisément : le premier trimestre ainsi que le dernier tiers de campagne (juillet–octobre).

Les mammites fongiques à *Aspergillus fumigatus* se concentrent uniquement au cours des mois d'octobre à janvier (100 %), soit au moment des mises bas. La fréquence va crescendo jusqu'au mois de décembre pour atteindre 51,9 % des isolats au cours de ce seul mois.

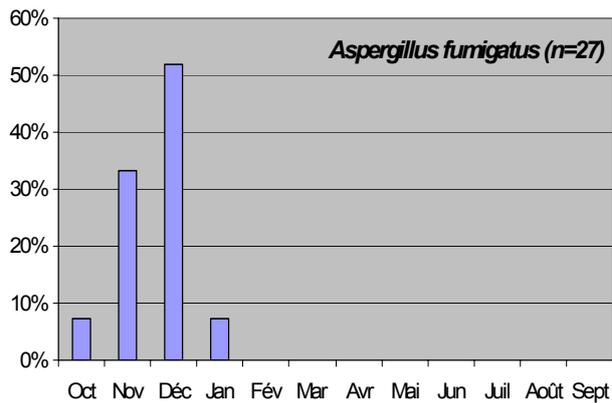
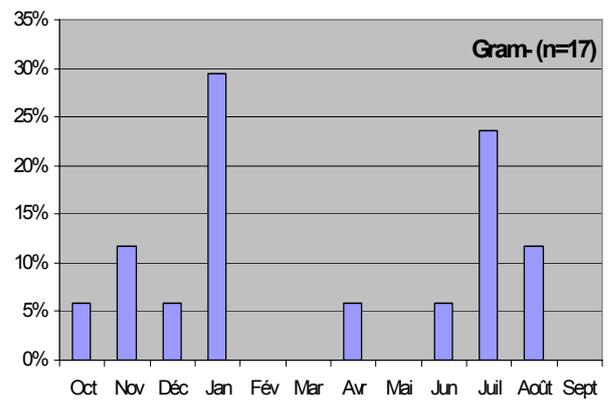
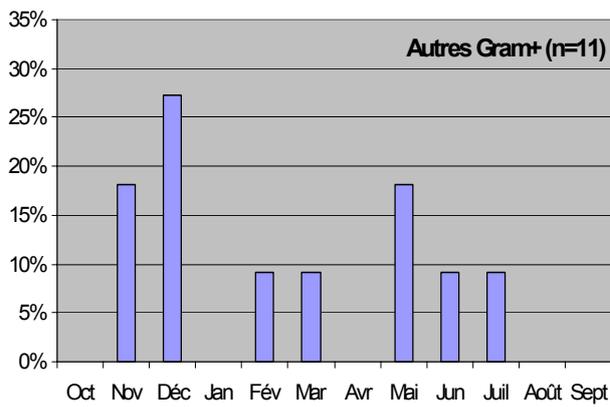
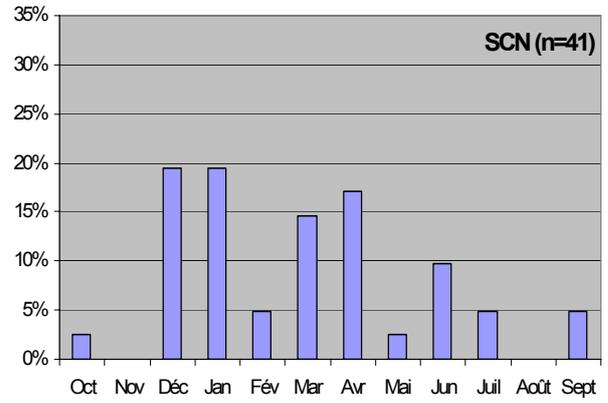
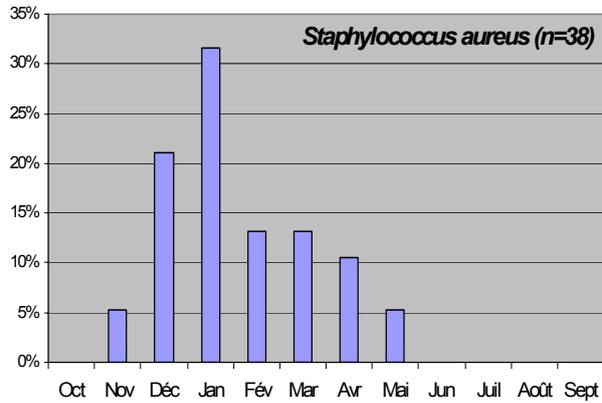


Figure 22. Répartition des isollements (en culture pure) au cours de la campagne (moyenne de 7 campagnes : 1999 à 2005) pour divers groupes de germes.

2. Influence de la campagne laitière

Chaque campagne, l'ensemble de ces deux laboratoires du rayon reçoit en moyenne 29 prélèvements de lait (écart-type : 11) issu de mammites cliniques de brebis (cf. Figure 23), avec une valeur minimale lors de la campagne 1999 (11 prélèvements) et maximale lors de la campagne 2003 (45 prélèvements). Concernant le laboratoire B, le nombre de prélèvement reçu n'était pas disponible pour les campagnes 1998 et 1999.

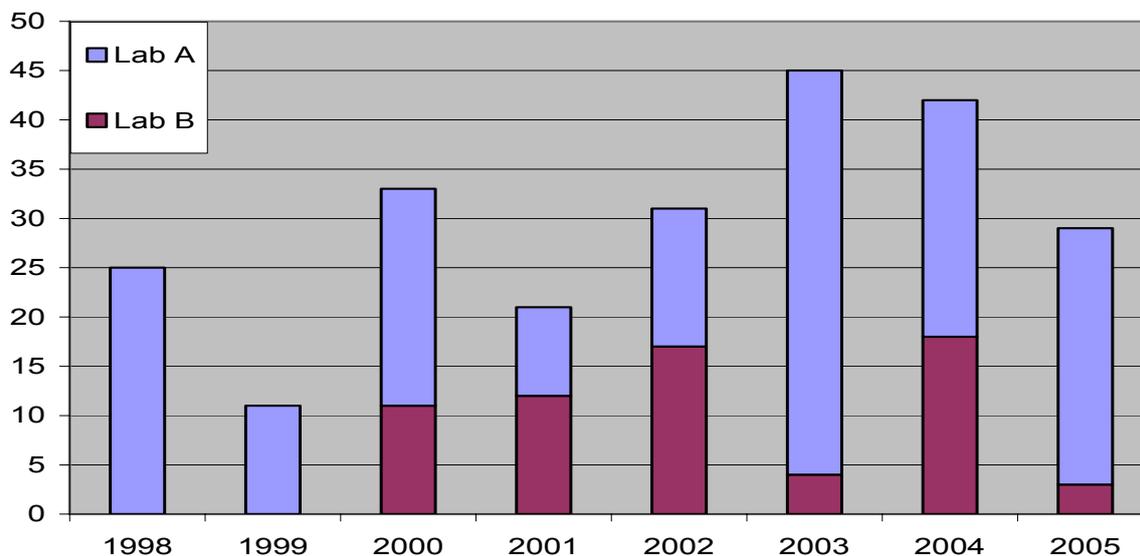


Figure 23. Nombre de prélèvements analysés en fonction des campagnes laitières.

Au cours de ces campagnes, une évolution semble apparaître (cf. Figure 24 et 21). Ainsi, la fréquence d'isolement des germes Gram + a globalement diminué pour passer de 75 % lors de la campagne 1998 à 40 % lors de la dernière campagne (2005). Cette diminution s'est faite au profit du groupe des germes Gram- et surtout d'agents pathogène fongiques (*Aspergillus fumigatus* principalement). Ce dernier a été isolé dans 60 % des cas lors de la campagne 2005.

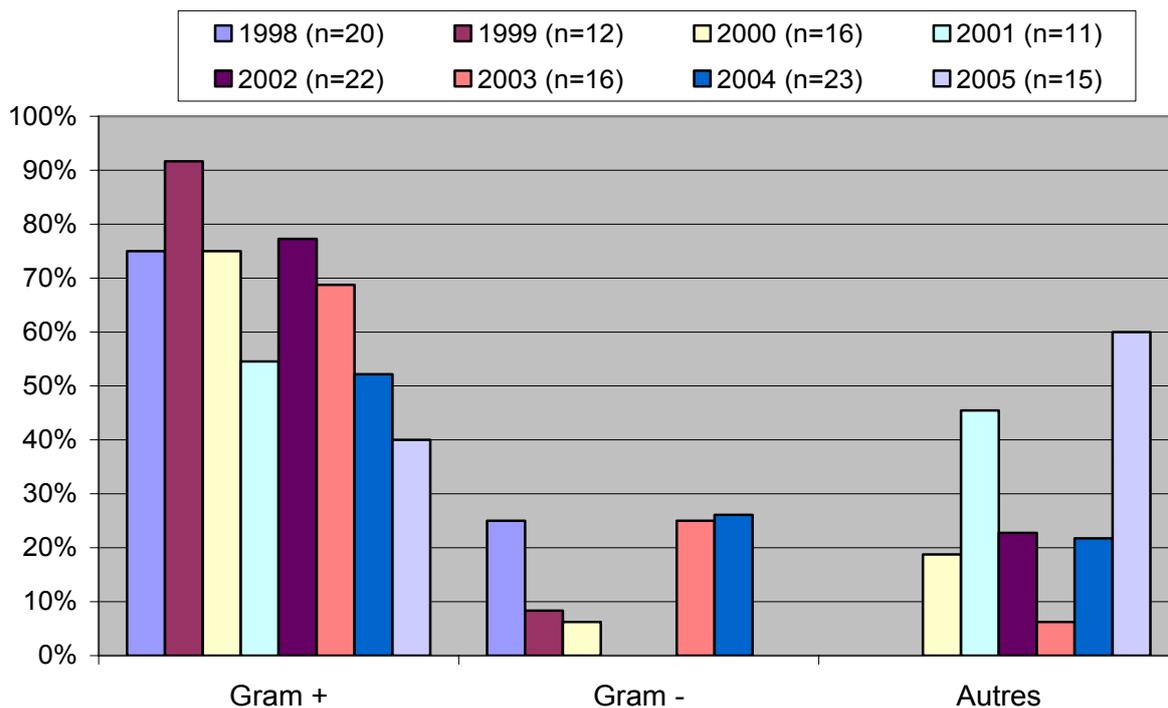


Figure 24. Evolution par campagne de la fréquence des principaux groupes de germes isolés lors de mammmites cliniques dans le bassin de Roquefort (hors co-infections).

Autres = champignons et levures.

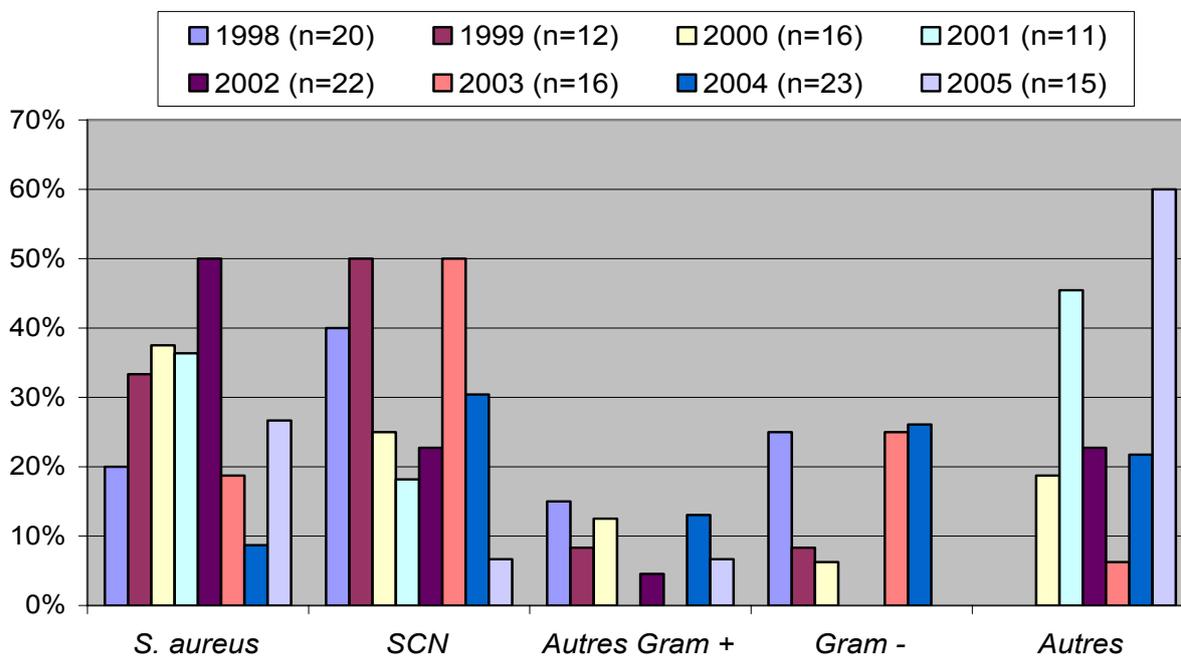


Figure 25. Evolution spéciale, par campagne, de la fréquence des principaux groupes de germes isolés lors de mammmites cliniques dans le bassin de Roquefort.

SNC = Staphylocoque à coagulase négative ; Autres = champignons et levures.

IV. Discussion

A. Validité des matériels et méthodes

1. Qualité de l'échantillonnage

a) Nombre de prélèvements

Dans le bassin de Roquefort, l'incidence annuelle de mammites cliniques est évaluée à 3,1 % en élevages au contrôle laitier officiel [4, 6, 7]. On peut donc considérer l'incidence globale (CLO, CLS et hors contrôle) à 4 % environ. En 2005, le rayon de Roquefort comptant 825 000 brebis [25], on peut donc estimer à 33 000 le nombre annuel approximatif de mammites cliniques. Les 239 prélèvements de cette étude ont été collectés sur 8 campagnes ; le nombre de prélèvements analysés est donc en moyenne de 29 ± 11 par campagne (cf. III.B.2). En résumé, moins d'un cas de mammite clinique sur mille conduit à la réalisation d'une analyse bactériologique.

Relativement au nombre de cas cliniques, le recours à l'analyse bactériologique et à la réalisation d'un antibiogramme est donc très faible. Le coût d'analyse semble être un des freins principaux. En effet, le coût d'une identification bactérienne se situe entre 15 et 22 €, celui d'un antibiogramme entre 13 et 16 € (données 2005, laboratoires A et B). Ceci est à comparer à la valeur d'une brebis de réforme qui est en moyenne de 42 € en race Lacaune (moyenne sur les campagnes de 1999 à 2004, source réseau atelier Optisud). La valeur d'une brebis de réforme correspond environ au coût d'une analyse avec antibiogramme.

En outre, dans 1 cas sur 10 environ, le résultat d'isolement à partir d'un lait issu de mammite peut s'avérer négatif (2.a). Par ailleurs, le délai de réponse est constitué par le temps de transport (1 à 3 jours par colis postal) et par la durée incompressible des analyses (3 jours au maximum). Ce délai peut donc paraître long lors de flambée de mammite dans un élevage. Le recours à cet outil diagnostique et pronostique semble donc avoir lieu uniquement lors de problèmes de troupeaux, d'apparition d'une symptomatologie atypique, ou lors d'échec de traitement de première intention. Afin de réduire le temps de réponse et de rendre la démarche d'analyse moins fastidieuse, une solution pour les vétérinaires praticiens pourrait être la réalisation analyses bactériologiques directement au sein de leur clinique. Cependant, le développement au sein d'un cabinet suppose un volume d'analyses conséquent.

b) Biais d'échantillonnage

L'ensemble des 239 prélèvements provient du bassin laitier de Roquefort. Les résultats sont issus de l'analyse bactériologique de laits ovins uniquement. Les échantillons de lait sont individuels, tout « lait de mélange » ou de tank a été exclu de l'étude. Cependant, le type d'élevage (laitier ou allaitant) dont est issu le lait ne peut être précisé. On peut légitimement penser que la majorité provient d'élevages laitiers, mais une incertitude persiste.

Le profil étiologique déterminé par la présente étude peut différer de la réalité de terrain. En effet, il est raisonnable de penser que la décision de l'éleveur de faire appel soit au vétérinaire, soit directement au laboratoire peut être tardive, après de nombreux cas de mammites. Ainsi, la prévalence de certains germes peut être faussée par le recours à l'utilisation d'un traitement sans consultation d'un vétérinaire. De même, la précocité de réalisation de prélèvements pour analyses est variable selon les vétérinaires.

Un choix judicieux des animaux prélevés par le vétérinaire ou l'éleveur lors de flambée de mammites est capital. En effet, un traitement antérieur peut conduire à des résultats faux-négatifs. On peut raisonnablement penser que les cas de mammites suraiguës ou fulgurantes sont en général non prélevés. Ceci peut conduire à sous-estimer l'incidence de mammites à *S. aureus*.

2. Qualité intrinsèque des échantillons

a) Réalisation du prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés par les vétérinaires de l'élevage ou par les éleveurs eux-mêmes, exceptionnellement par le personnel des laboratoires. La technique de prélèvement peut donc varier d'un cas à l'autre, en particulier en matière de précautions aseptiques. Le taux d'échantillons « contaminés » peut donc être considéré comme plus élevé qu'il ne pourrait l'être si des professionnels avaient pris le temps de systématiquement réaliser les prélèvements. Dans notre étude, le pourcentage de laits « contaminés », c'est-à-dire ayant donné lieu à la culture d'au moins 3 types de colonies différentes, est de 11 %.

Cependant, cette valeur est cohérente avec des études similaires [4, 5, 45]. Le pourcentage de co-infections (2 types de colonies) est, d'autre part, de 22,4 %. Dans une étude de l'étiologie des mammites cliniques ovines réalisée dans le bassin laitier des Pyrénées-Atlantiques [39], ces pourcentages ont été respectivement de 12,1 % et 6,9 %. Dans une autre étude menée par l'ENVT, ces pourcentages ont été respectivement de 2,5 à 5 % et de 4,5 % [4]. Les proportions de laits « contaminés » et surtout donnant lieu à la culture de 2 types bactériens sont probablement artificiellement élevées. Nous attribuons ces résultats aux contaminations qui ont pu se produire lors de prélèvements, amenant en particulier à une surestimation du pourcentage de co-infections. Le risque de contamination lors de la phase analytique au laboratoire semble en revanche être extrêmement faible.

Le pourcentage de laits « négatifs » s'étale de 13 à 22 % dans de précédentes publications [4, 5, 21, 24, 35, 45], contre 9,7 % dans notre étude. Nous confirmons donc qu'il est fréquent de ne pas obtenir de culture à partir d'un prélèvement unique de lait de mammite. Cependant, un résultat négatif ne doit pas conduire à la conclusion que la mamelle est « saine ». Les principales explications possibles sont les traitements antibiotiques préalables, l'intermittence de l'excrétion, l'enkystement de bactéries dans les lésions anciennes, ainsi que la localisation intracellulaire de certaines bactéries [4, 46]. Le faible nombre de laits « négatifs » peut ici être dû à une contamination des échantillons lors du prélèvement.

b) Acheminement au laboratoire

Les conditions d'acheminement au laboratoire ont probablement été variables. Ainsi, de mauvaises conditions (température excessive principalement) ont pu conduire à la multiplication des flores contaminantes et à l'augmentation de résultats polybactériens dits « contaminés ».

Il est en revanche probable que la congélation, pouvant être à l'origine de résultats faux-négatifs pour des flores Gram négatives, ait été exceptionnelle.

3. Analyse

a) Isolement

Au sein des deux laboratoires, les techniques d'isolement sont très proches. Il est cependant important de noter que, pour les deux laboratoires :

- un ou plusieurs enrichissements sont systématiquement réalisés. Ceci permet de réduire le nombre de résultats faux-négatifs issus de prélèvements paucimicrobiens.
- lors d'ensemencement conduisant à l'isolement de plus de 3 types bactériens, l'identification individuelle n'est pas réalisée ; le prélèvement est dit « contaminé ».

b) Identification

Les identifications bactériennes sont réalisées par des méthodes phénotypiques : coloration de Gram et tests biochimiques appropriés. Ceci permet de classer les isolats par genre bactérien. L'identification au niveau de l'espèce est réalisée par biotypage à l'aide de galeries type API et de leur base de données correspondantes. Cependant, cette méthode peut être parfois erronée ou insuffisante.

Ce défaut d'identification au niveau de l'espèce apparaît principalement lors d'identification d'isolats de SCN. Ainsi, dans notre étude, pour 24,4 % des SCN, l'identification de l'espèce n'a pu être réalisée. Pour les isolats où l'identification de l'espèce a été réalisée, une incertitude sur l'espèce subsiste. Des défauts d'identification de SCN sont notés dans d'autres publications. [12, 16, 29] En effet, concernant l'identification des isolats, Fthenakis [15] constate que la combinaison de tests biochimiques (fermentations arabinose/xylose, lactose, maltose, mannose, sucrose, thréhalose ; production d'acétone, DNase, phosphatase) et la réalisation d'une galerie API conduisent à la même conclusion dans 68 % des cas seulement. De même, une étude récente [10] compare les résultats d'identification de SCN par biotypage (API 20 staph) et par géotypage (typage ribosomal 16S) : près de 63 % (n=166) des isolats de SCN ont été incorrectement identifiés par le système API. Ceci peut être expliqué par le fait que la base de données API est insuffisante, même dans sa dernière version, pour l'identification de souches sauvages de certains genres ou groupes bactériens. Mais également par le fait que le biotype n'est pas une propriété stable et qu'il peut être influencé aussi bien par une variété de facteurs techniques et environnementaux que par le gain ou la perte d'un plasmide.

Les différences observées entre ces deux méthodes d'identification nous incitent à la prudence quant à la prévalence des diverses espèces de SCN isolées de mammites cliniques ovines.

4. Acquisition des données

Les renseignements fournis accompagnant l'envoi sont généralement minimales. Ainsi, il est possible que certains laits proviennent de mammites chroniques ou subcliniques et non d'atteintes cliniques recherchées pour notre étude. De même, certains prélèvements ont pu être issus d'élevages allaitants. Cependant, même s'il est difficile de quantifier ce problème, on peut tout de même penser qu'il est mineur.

De même, il fut impossible d'associer un prélèvement à une identification de brebis. Les constatations réalisées au paragraphe « effet du stade de lactation » (cf. III.B.1) sont

basées sur des stades physiologiques moyens du bassin de Roquefort. Des approximations similaires furent réalisées pour associer un numéro de campagne à chaque prélèvement.

B. Recours à l'analyse de laboratoire

a) Par élevage

Le nombre moyen de prélèvements envoyés, par chaque élevage de l'étude au cours de huit campagnes laitières, est de 2 laits. En outre, pour un élevage, les envois concernent dans la majorité des cas une seule campagne. Il semble donc que l'analyse de lait demeure un outil peu usité et réservé à des cas critiques ponctuels dans les élevages.

b) Par cabinet

Au cours de ces 8 campagnes laitières, 50 % (n=26) des cabinets vétérinaires de l'étude ont envoyé moins de 5 prélèvements. Donc, au cours d'une campagne, un cabinet vétérinaire du rayon envoie, en moyenne, moins d'un prélèvement de lait de brebis pour analyse.

c) Par campagne

Chaque campagne, l'ensemble des deux laboratoires du rayon reçoit en moyenne 29 prélèvements de lait issus de mammites cliniques de brebis. Globalement, le nombre d'analyses effectuées par campagne semble constant au cours de ces huit dernières campagnes laitières.

Au cours de la campagne, une première vague de prélèvements a lieu en début de lactation (octobre à janvier). Elle représente 52,5 % des prélèvements de la campagne. Une deuxième est constatée en mars-avril, probablement lors de la mise à l'herbe (19,6 % de l'ensemble).

C. Germes isolés de mammites cliniques : généralités

Parmi les résultats interprétables (non contaminés et non négatifs), les identifications réalisées nous indiquent que l'on retrouve à 67,2 % des bactéries de type Gram positif. Ceci est en accord avec les autres études portant sur les mammites ovines qui dénombrent 44 à 97 % de bactéries Gram positives impliquées dans ces atteintes mammaires cliniques [1, 5, 18, 24, 35]. Parmi les bactéries Gram+, le groupe des staphylocoques est prédominant à près de 87,8 %. Cette valeur est comparable aux valeurs relevées dans les études [1, 18, 24, 29, 39] menées en élevages laitiers (de 68 à 86 % de *Micrococcaceae* parmi les isollements Gram positifs). On retrouve également des valeurs similaires en élevage allaitant (77 % [45]). Pour les bactéries Gram -, on retrouve entérobactéries et non-entérobactéries dans des proportions équivalentes.

La répartition des isollements de germes responsables de mammites cliniques (cf. Figure 21) met en évidence le fait que deux périodes semblent se dessiner : une en début de lactation (octobre à janvier, représentant 52,5 % de l'ensemble), une deuxième en mars-avril (19,6 % de l'ensemble). La première vague de mammite correspond à la période de mise bas et de début de lactation. La seconde semble coïncider avec la mise à l'herbe ; en effet, il se peut que le stress (principalement alimentaire) lié à la sortie puisse augmenter la sensibilité des brebis aux affections mammaires [7].

Pour certains groupes de germes, un isolement préférentiel à un stade de lactation donné a été constatée (cf. III.B.1.c)). C'est sous angle que nous aborderons les divers groupes de germes rencontrés.

D. Mammites en peri partum

1. Mammites fongiques

Aspergillus fumigatus est le troisième agent pathogène isolé le plus fréquemment au cours de cette étude (derrière les SCN et *S. aureus*) : il a été isolé dans près de 18 % des cas. Chez la brebis laitière, des mammites aspergillaires ont été décrites en Espagne avec des incidences au sein des élevages de 2 % à 36 % [3, 31]. Etant un pathogène responsable de mammites de début de campagne, il conduit souvent le praticien à réaliser une analyse bactériologique et fongique du lait de mammité. Ainsi, la fréquence observée ici peut être surévaluée. *Aspergillus fumigatus* demeure un agent pathogène rare lors d'affections mammaires chez la vache ou la chèvre, bien que des cas similaires à ceux de la brebis aient été rapportés.

Dans notre étude, les cas cliniques de mammites aspergillaires apparaissent en début de campagne, peu de temps après l'agnelage entre les mois d'octobre et janvier (Figure 25). Aucun cas n'est décrit en dehors de cette période. Ceci est cohérent avec les résultats de précédentes études [3, 31] qui décrivent la survenue de cas de mammité clinique un à vingt et un jours après le part.

Les sources aspergillaires en élevages sont principalement constituées par les pailles ou fourrages rentrés humides ou moisissus, l'air, la litière humide,... Les levures sont également présentes dans l'eau résiduelle des faisceaux trayeurs [4].

Les signes cliniques généraux de la mammité aspergillaire sont non spécifiques : abattement, fièvre, perte d'appétit et aggravation au fil du temps. Les signes locaux sont plus spécifiques : augmentation de taille et induration de la mamelle (avec hypertrophie des nœuds lymphatiques mammaires). La mamelle peut prendre alors une couleur violacée. La sécrétion mammaire est très altérée : aspect séreux jaunâtre plus ou moins sanguinolent [3, 4, 31]. La forme aiguë est souvent mortelle [3, 31]. Dans de rares cas, l'atteinte initialement mammaire peut se généraliser et atteindre les poumons, les reins et le foie [31].

De nombreuses théories ont tenté d'expliquer ces flambées de mammites fongiques post partum. Motivé par un paiement à la qualité cellulaire du lait, le traitement au tarissement est rendu quasi systématique en conduite Roquefort. Une mauvaise hygiène ou pratique lors du traitement au tarissement (défaut de désinfection du trayon, utilisation d'un demi-applicateur par hémimamelle) semble être en cause [3, 31]. Enfin, les spécialités ne comportant plus de composés actifs (tel le nitrofurazone) contre les agents fongiques (dont les *Aspergillus*) des mammites d'inoculations sont devenues plus fréquentes [32].

2. Mammites à *Pseudomonas* spp.

Sur l'ensemble des campagnes de 1998 à 2005, 7 bactéries du genre *Pseudomonas* ont été isolées au sein de 4 élevages différents. Parmi elles, six étaient *Pseudomonas aeruginosa* et une *Pseudomonas paucimobilis*. *Pseudomonas aeruginosa* fut également décrit chez la brebis laitière comme agent étiologique de mammites cliniques [4, 6, 24, 34, 36, 38]. La fréquence de mammites à *Pseudomonas* spp. est généralement faible 1,1 % [39].

Pseudomonas spp. vit à l'état saprophyte dans l'eau et les sols humides (elle résiste mal à la dessiccation) ou à la surface des végétaux. Elle vit également à l'état commensal dans l'intestin de l'homme et des animaux. Plus rarement, elle est isolée de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux [13, 20]. En élevage laitier, les réservoirs de *Pseudomonas* spp. se trouvent donc principalement dans les zones de couchages humides et dans l'eau résiduelle de la machine à traire, en particulier des faisceaux trayeurs [4]. Il est cependant important de noter que les solutions antiseptiques contaminées présentent un danger potentiel, notamment les solutions antiseptiques pour trayons. Il s'agit soit d'antiseptiques inactifs sur le germe (par exemple les solutions à base d'ammonium quaternaire), soit de la présence de mutants résistants à des antiseptiques habituellement actifs [13].

Les mammites à *Pseudomonas* spp. se présentent soit sous des formes suraiguës avec mortalité, soit sous des formes cliniques chroniques avec sclérose des citernes et abcès multiples. Chez la vache, la sensibilité aux infections par *Pseudomonas* spp. semble accrue chez les animaux présentant des lésions du trayon (défaut de réglage de la machine à traire, traumatismes) et/ou des déficiences immunitaires (infections intercurrentes, défaut d'alimentation). Les résistances aux antibiotiques étant multiples et les antibiotiques disponibles en médecine vétérinaire limités, le traitement de tels cas se solde souvent par un échec voire la mort de l'animal [13, 20]. La réforme précoce de la brebis semble donc une suite fatale à une infection intra-mammaire par *Pseudomonas* spp.

E. Mammites de la phase d'allaitement

Durant la phase d'allaitement, qui est réduite à 4 semaines en conduite Roquefort, aucun groupe de germe n'est isolé de façon préférentielle. Toutes catégories de germes ont pu être isolées au cours de cette période. Il est cependant intéressant de décrire le cas des mammites à pasteurelles.

La fréquence de mammites à pasteurelles est faible sur le bassin laitier de Roquefort selon nos résultats. Parmi les 241 prélèvements analysés, seuls 3 cas de mammites à pasteurelles ont été identifiés dans 3 élevages différents au cours de ces cinq dernières campagnes. Une faible fréquence d'isolement a été également notée dans de précédentes études : 1,9 % (n=268) [39], 2,8 % (n=145) [24] et 3,3 % (n=153) des prélèvements [45]. Deux études ont décrit des fréquences d'isolement importantes : 53,3 % (n=15) [22] et 60 % (n=20) [40]. Cependant, ces dernières études sont basées sur un nombre réduit de cas et ceux-ci peuvent être issus de mammites épizootiques à pasteurelles.

Dans notre étude, *Mannheimia haemolytica* est à chaque fois en cause lors d'isolement de pasteurelles. Parmi les pasteurelles, *M. haemolytica* est la plus fréquemment isolées lors de travaux précédents [22, 35, 39, 40]. Cependant, des cas de mammites à *P. multocida* [45] ou à pasteurelles [24, 45] non identifiables ont été décrits.

Ces trois pasteurelles ont été mises en évidence dans les mois de janvier, février et mars. Cependant, le nombre réduit de cas rencontré dans cette étude ne nous permet pas de déduire si l'incidence de mammites varie au cours de la campagne de manière significative.

Cliniquement, il s'agit de mammites le plus souvent unilatérales, sévères, nécrotiques ou gangreneuse (d'où la dénomination de "blue bag"), accompagnées de signes généraux (fièvre, anorexie, inappétence, abattement) dus à la libération d'endotoxine et pouvant même provoquer la mort des animaux. Le lait est d'abord clair et aqueux puis il devient jaunâtre, visqueux et il contient des grumeaux [2, 13, 44]. Les pasteurelles colonisent la mamelle de façon ascendante consécutivement aux tétées, le rôle vecteur étant joué par les agneaux

(bouche, tonsilles palatines, nasopharynx) [44], initialement contaminés par les mères lors du léchage. On sait qu'un nombre restreint de germes (moins de 10 UFC) suffit à déclencher une mammite [13]. Ces bactéries n'étant pas aptes à coloniser la peau de la mamelle, elles sont absentes du trayon avant la mise bas et après le sevrage. Les pasteurelles sont donc préférentiellement isolées durant la phase d'allaitement des agneaux.

F. Mammites de traite

Staphylococcus aureus est un pathogène majeur lors de mammites cliniques des ovins laitiers. Dans notre étude, *Staphylococcus aureus* représente 19,5 % des isolements réalisés, soit 28,1 % des isolats issus de cultures pures. Ceci apparait en deçà des données d'études précédentes menées en élevage laitier qui affichent une fréquence comprise 30 et 100 % [1, 17, 18, 23, 24, 29, 37, 40]. En élevage allaitant, *S. aureus* demeure l'agent pathogène le plus fréquemment isolé [45].

Dans notre étude, *Staphylococcus aureus* a été isolé uniquement de novembre à mai (100 % des isolements). La fréquence d'isolement de *Staphylococcus aureus* est accrue au cours des premiers mois de traite de décembre à février. Cette période regroupe près de 65 % des isolements. Etant responsables de cas cliniques aigus présents préférentiellement en début de campagne laitière, nous pouvons raisonnablement penser qu'ils conduisent plus facilement à des analyses de laboratoires, l'éleveur étant préoccupé quant au bon déroulement de la campagne laitière. Cette « saisonnalité » des isolements de SCP est donc à tempérer. Un pic d'isolement de SCP a donc lieu en début de traite, c'est-à-dire aux mois de décembre/janvier. Puis, la fréquence d'isolement diminue à partir du mois de février. Cet équilibre atteint à partir du 3-4^{ème} mois de traite peut s'expliquer par l'élimination des cas cliniques graves (mort ou réforme précoce) et par la fin d'intégration des brebis à la traite (toutes les brebis ayant agnelées, y compris les primipares).

Staphylococcus aureus induit des mammites avec une atteinte marquée de l'état général, une mamelle chaude, indurée avec un lait aqueux brun plus ou moins purulent. Dans des cas suraigus, une nécrose et une gangrène de la mamelle peut être observée. Les formes chroniques entraînent atrophie, induration et abcès de la mamelle. Ces données confirment le rôle important de la traite dans la transmission de cet agent pathogène. Il est important de rappeler que deux types de réservoirs peuvent être associés à *Staphylococcus aureus* :

- ◆ les réservoirs primaires : ils sont constitués des héli-mamelles infectées de manière clinique ou subclinique, mais également des infections cutanées du trayon (traumas, ecthyma contagieux).
- ◆ les réservoirs secondaires : ils sont constitués par les équipements de traite (manchons de traite), les mains du trayeur,...

G. Autres mammites

Les isolements d'autres groupes bactériens n'ont pu être clairement être rattachés à une période spécifique de la campagne. Ces types de bactéries peuvent être donc isolés tout au long de la campagne.

1. Mammites à staphylocoques coagulase négative

Sur l'ensemble des isolements, le groupe des SCN est celui qui est isolé le plus fréquemment (33,6 %). En particulier, la fréquence de leur isolement est supérieure à celle de

S. aureus (19,5 %). Ceci contraste avec les études précédentes qui décrivent un isolement préférentiel de *S. aureus*, puis viennent les SCN isolés entre 0 et 13 % des cas [1, 18, 24].

Dans notre étude, *Staphylococcus epidermidis* est le SCN le plus fréquemment isolé (dans 34,1 % des cas ayant conduit à une culture pure de SCN, soit dans 23,5 % des isollements de SCN). *Staphylococcus epidermidis* est décrit comme responsable d'atteintes cliniques [11, 16]. Il représente jusqu'à 40 % des SCN isolés dans certaines études [17]. *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus lentus* également apparaissent fréquemment (respectivement dans 14,8 % et 8,6 % des isollements) bien qu'ils ne soient pas décrits comme agents responsables de mammites cliniques chez les petits ruminants laitiers. Chez la vache, *S. simulans* et *S. chromogenes* sont les SCN les plus fréquemment impliqués lors de mammites.

Traditionnellement, les SCN étaient considérés comme pas ou peu pathogène pour la glande mammaire, en particulier chez la vache. Cependant, des études récentes ont montré l'importance de ce groupe dans l'étiologie des mammites cliniques bovines [33, 41] et ovines [14]. L'inoculation de SCN issus de mammites ovines cliniques peut conduire au développement d'une infection mammaire clinique. En effet, une souche de *Staphylococcus chromogenes*, inoculé dans une héli-mamelle, a conduit à une atteinte clinique [14]. Ce ne fut pas le cas avec des souches de *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus simulans*. Cependant, des atteintes cliniques sont également décrites pour les germes suivants : *Staphylococcus warneri* [8 , 11], *Staphylococcus simulans* [11].

L'identification au niveau de l'espèce fut impossible dans 23,5 % des isollements de SCN. Les difficultés d'identification des SCN ont été abordées précédemment (cf. A.3.b)

La fréquence d'isolement relativement élevée par rapport aux SCP peut s'expliquer par le fait que *S. aureus* est responsable de mammites nécessitant moins le recours à la recherche étiologique : cas cliniques suraigus entraînant la mort de l'animal, épidémiologie et clinique évocatrice,... Les SCN étant moins connus, ils peuvent conduire plus facilement à un prélèvement. En outre, les SCN ne sont pas éliminés en totalité même lors d'utilisation de traitement au tarissement. Ils peuvent donc persister durant la période sèche et conduire à des affections à la lactation suivante.

2. Mammites à streptocoques

Au cours des 8 campagnes laitières décrites dans la présente étude, des streptocoques ont été isolés en culture pure dans 7 prélèvements ; 19 streptocoques ont été isolés en présence d'un autre agent pathogène. Globalement, les streptocoques représentent 10,7 % des isollements. La fréquence d'isolement rencontrée ici est semblable à celle observée dans des études antérieures [24, 29, 35] décrivant de 4 à 18 % de fréquence d'isolement.

Sur les sept *Streptococcaceae* isolés de cultures pures, ont été identifiés quatre streptocoques du groupe D (Lancefield), un *S. equisimilis*, un *S. mitis* et un *S. uberis*. Tous ces isollements ont été effectués à partir de prélèvements provenant d'élevages différents.

Les streptocoques du groupe D étaient anciennement divisés en entérocoques (*Enterococcus faecium* et *E. faecalis*, en particulier) et en streptocoques du groupe D non entérocoques.

S. equisimilis, identifié ici dans un seul prélèvement, était anciennement classé dans le groupe C de Lancefield, il a été renommé *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*.

S. mitis, identifié ici dans un seul prélèvement, fait parti des streptocoques dits « oraux » non rattaché aux groupes de Lancefield ; Ils ont un portage naso-pharyngé.

S. uberis a été isolé dans 8,5 % des cas lors d'une étude menée en élevage de brebis allaitantes [45]. Un seul cas a été rencontré dans notre étude. Ceci est à mettre en opposition avec la situation chez les bovins où *Streptococcus uberis* compte parmi les principaux agents responsables de mammites : 20 à 33 %, selon les études, des mammites bovines seraient dues à ces germes. Ces bactéries sont à l'origine de mammites cliniques et sub-cliniques chez les vaches en lactation (notamment en début de lactation) et elles sont les principales espèces isolées au cours du tarissement. Contrairement aux autres streptocoques responsables de mammites à portage intra-mammaire, ces germes sont également isolés de la peau de la mamelle, de l'intestin, des amygdales, du vagin et de l'environnement [13].

Il est important de noter l'absence d'isolement chez la brebis de *S. agalactiae* qui était un agent pathogène majeur concernant les mammites de la vache laitière. *S. agalactiae* est un parasite obligatoire, de faible résistance dans l'environnement. Il donc à classer dans les germes à réservoir mammaire.

Relativement à la situation chez la vache laitière, l'importance des *Streptococcaceae* apparait donc limitée concernant les mammites cliniques des ovins. On peut cependant rappeler qu'une flambée de mammites cliniques à *S. equi* subs. *zooepidemicus* a été décrite [28] en Espagne.

3. Mammites à entérobactéries

Au cours des 8 campagnes laitières décrites dans la présente étude, des entérobactéries ont été isolées en culture pure dans 8 prélèvements ; 16 entérobactéries ont été isolées en présence d'un autre agent pathogène. Globalement, les entérobactéries représentent 10 % (n=241) des isollements. Ces isollements ont été effectués à partir de prélèvements issus de 6 élevages différents.

Dans notre étude, parmi les entérobactéries isolées de mammites cliniques, le genre *Serratia* est le plus fréquemment isolé. L'espèce n'est généralement pas identifiée. Cependant, d'après des données relatives à l'espèce bovine [42], l'espèce *Serratia marcescens* représente 2/3 des espèces de *Serratia* isolées. Des cas cliniques de mammite à *Serratia marcescens* ont été décrits en Grèce chez des ovins laitiers [43]. Cependant, *Serratia marcescens* n'est pas un agent très agressif pour la mamelle : des expositions du trayon biquotidiennes par trempage n'ont pas induit d'infection intra-mammaire [43]. Cependant, pour les brebis affectées, le traitement s'avère long et coûteux et conduit donc à la réforme prématurée de la productrice. Les sources de *Serratia* sont principalement constituées par l'environnement et les mamelles atteintes subcliniquement. Il faut noter que *Serratia marcescens* peut survivre dans certains produits de trempages des trayons [43], notamment dans les désinfectants à base d'ammoniums quaternaires.

Au cours des 8 campagnes laitières décrites dans la présente étude, *Escherichia coli* a été isolé en culture pure dans 3 prélèvements ; 9 *E. coli* ont été isolés en présence d'un autre agent pathogène. Globalement, elles représentent 5 % (n=241) des isollements. Des études précédentes ont mis en évidence 14,2 % d'*E. coli* en élevage laitier [24] et 13,8 % en élevage allaitant [35]. Les isollements d'*E. coli* ont été réalisés au cours de deux périodes : en début de lactation (de décembre à janvier) et au tarissement (août). Il faut noter qu'*E. coli* apparait être un pathogène peu rencontré, responsable de formes aiguës et chroniques chez la brebis, contrairement à la situation chez la vache où *E. coli* est fréquemment responsable de mammites environnementales sévères au part et en début de lactation [9].

H. Comparaison avec le bassin des Pyrénées-Atlantiques

Dans une étude similaire [39] menée dans les Pyrénées-Atlantiques, 422 prélèvements de lait de mammites ovines ont été analysés. Un résultat comparatif est présenté à la Figure 26. La proportion de prélèvements « contaminés » est similaire dans les deux études. Cependant, concernant les co-infections et les résultats négatifs, une différence nette apparaît. Ces variations peuvent s'expliquer par des différences d'interprétation des résultats de cultures au sein des différents établissements.

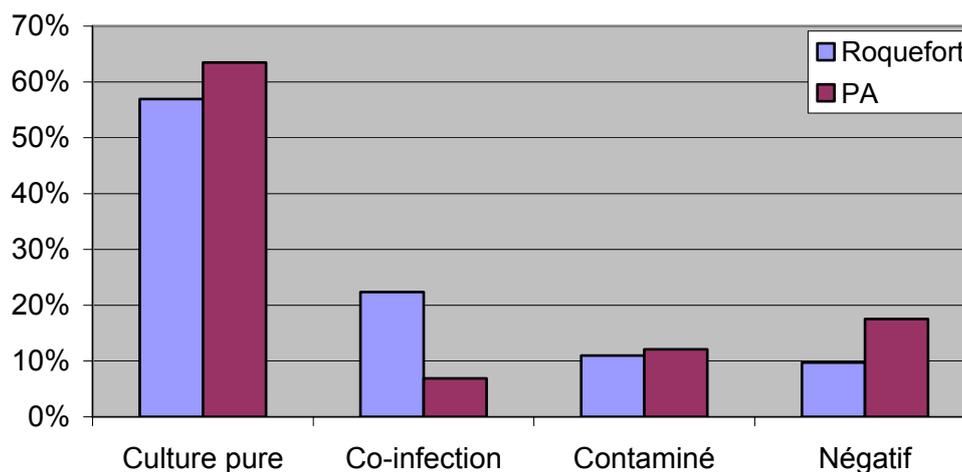


Figure 26. Fréquence des principaux types de résultats obtenus à partir de laits de mammites cliniques au sein du bassin de Roquefort et des Pyrénées-Atlantiques.

PA = Pyrénées-Atlantiques

La Figure 27 illustre le fait que, globalement (en omettant la catégorie « autres »), la prévalence d'isolement des différents groupes de germes est identique dans les deux bassins. Les bactéries Gram + sont isolées de façon préférentielle. Les staphylocoques constituent le groupe prédominant, représentant respectivement 58,5 % et 80,2 % des cultures pures au sein des bassins laitiers de Roquefort et Pyrénées-Atlantiques. L'importance des staphylocoques à coagulase positive et à coagulase négative est quasi identique dans les deux systèmes.

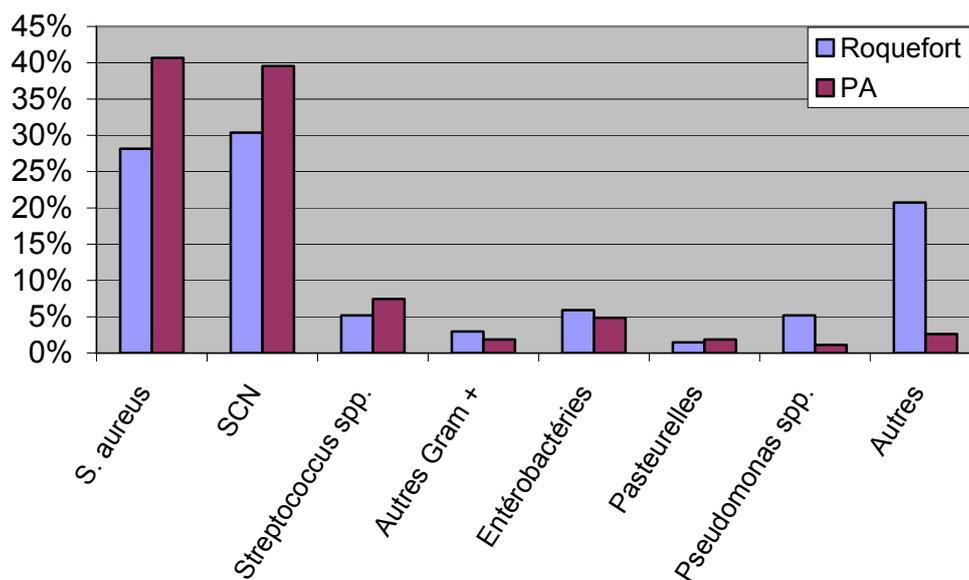


Figure 27. Fréquence des principaux groupes de germes isolés de cultures pures lors de mammites au sein du bassin de Roquefort et des Pyrénées-Atlantiques.

PA = Pyrénées-Atlantiques ; SCN = Staphylocoque à coagulase négative ; Autres = Champignons et levures

Cependant, pour la catégorie « Autres » regroupant les champignons et levures, la fréquence d'isolement est nettement supérieure dans le bassin de Roquefort (20,7 % des cultures pures) qu'en Pyrénées-Atlantiques (2,6 % des cultures pures). Cette différence est due au champignon *Aspergillus fumigatus* qui le 3^{ème} germe le plus fréquemment isolé de mammites cliniques dans le rayon. Il ne fut jamais isolé en Pyrénées-Atlantiques [39]. Cette différence majeure peut être rapportée à la quasi-absence de traitement antibiotique intramammaire au tarissement dans les Pyrénées-Atlantiques alors que cette pratique est très répandue en Roquefort. On assiste ainsi à de sévères mammites fongiques en péri partum (cf. IV.D.1).

V. Conclusion

Relativement au nombre de cas de mammites cliniques, le recours à l'analyse bactériologique et à la réalisation d'un antibiogramme demeure peu fréquent : moins d'un cas de mammite clinique sur mille conduit à la réalisation d'une analyse bactériologique. De multiples raisons évoquées précédemment expliquent cette situation. Les traitements des mammites mis en œuvre, du moins en première intention, relèvent donc d'une démarche probabiliste fondée sur la clinique et les antécédents de l'élevage. La réalisation d'un examen bactériologique au cabinet, par des méthodes simples et peu onéreuses, est possible et pourrait permettre d'obtenir un diagnostic rapide d'orientation avec un bon degré de fiabilité (identification au niveau du genre).

Concernant l'épidémiologie et l'étiologie des mammites cliniques, il est intéressant de noter que des différences notables existent par rapport à la vache laitière. Ainsi, l'incidence des mammites cliniques chez la brebis est faible (< 5 %) relativement à la situation en pathologie bovine (30 à 35 % en moyenne). De plus, au sein du bassin de Roquefort, les bactéries non-environnementales (SCP, SCN) sont responsables à 58,5 % des mammites cliniques. Il faut également noter le cas particulier des mammites aspergillaires en péri partum qui représentent 18 % des isollements : ceci est à relier avec la réalisation d'un traitement antibiotique intra-mammaire au tarissement. Ce dernier type de mammite est absent dans les Pyrénées-Atlantiques. Par contre, les coliformes et les streptocoques sont rarement la cause d'infections intra-mammaires, alors que chez la vache, ce sont des agents pathologiques majeurs. Les mammites d'environnement sont donc rares chez la brebis laitière et la transmission par la traite joue un rôle primordial avec une forte incidence autour du pic de lactation.

Le contrôle des mammites en élevage ovin laitier a fait des progrès significatifs en particulier grâce à l'utilisation de traitements intra-mammaires systématiques au tarissement, au contrôle régulier des installations de traite et au développement des comptages cellulaires pour le dépistage. Les besoins actuels et futurs pour améliorer la prévention des mammites semblent être : une meilleure connaissance des agents en cause (facteurs de pathogénicité) le développement de vaccins antistaphylococciques vis-à-vis des infections cliniques à *S. aureus*, et une caractérisation des gènes contrôlant la résistance aux mammites en vue d'améliorer, à terme, la sélection d'animaux résistants.

Annexes

Annexe 1. Résultats des analyses bactériologiques (en nombre de prélèvements) de laits issus de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort).

TABLEAU GENERAL	Lab A	Lab B	Roquefort
Culture pure	98	37	135
Co-infection	37	16	53
Contaminé	18	8	26
Négatif	19	4	23
Total	172	65	237

Annexe 2. Tableau général des résultats des analyses bactériologiques (en nombre de prélèvements) de laits issus de mammites cliniques, ayant donnés des cultures pures, dans les 2 laboratoires et total (Roquefort).

SCN = Staphylocoque à coagulase négative

CULTURES PURES	Lab A	Lab B	Roquefort
<i>S. aureus</i>	25	13	38
SCN	32	9	41
Autres Gram +	8	3	11
Total des Gram+	65	25	90
Entérobactéries	3	5	8
Non Entérobactéries	8	1	9
Total des Gram -	11	6	17
Autres	22	6	28
Total Général	98	37	135

Annexe 3. Détails (en nombre de prélèvements) des principaux *Micrococcaceae* isolés de mammites cliniques, ayant données des cultures pures, dans les 2 laboratoires et total (Roquefort).

SCN = Staphylocoque à coagulase négative

CULTURES PURES – GRAM+	Lab A	Lab B	Roquefort
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	13	25
SCN non identifiable	8	2	10
<i>Staphylococcus hyicus</i>	1	1	2
<i>Staphylococcus lentus</i>	2	0	2
<i>Staphylococcus simulans</i>	2	0	2
<i>Staphylococcus xylosus</i>	5	1	6
<i>Staphylococcus capitis</i>	2	0	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10	4	14
<i>Staphylococcus hominis</i>	2	0	2
<i>Staphylococcus cohnii ureal</i>	0	1	1
<i>Streptococcus</i> groupe D	3	1	4
<i>Streptococcus equisimilis</i>	0	1	1
<i>Streptococcus uberis</i>	0	1	1
<i>Streptococcus mitis</i>	1	0	2
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	2	0	2
<i>Micrococcus</i> non identifiable	2	0	2
Total Général	65	25	78

Annexe 4. Détails (en nombre de prélèvements) des principaux groupes de Gram - isolés en culture pure de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort).

CULTURES PURES – GRAM-	Lab A	Lab B	Roquefort
<i>Escherichia coli</i>	2	1	3
<i>Serratia</i> non identifiable	1	3	4
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0	1	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	0	6
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	1	0	1
<i>Mannheimia haemolytica</i>	1	1	2
Total Général	11	6	17

Annexe 5. Détails (en nombre de prélèvements) des germes de la catégorie « Autres » isolés en culture pure de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort).

CULTURES PURES - AUTRES	Lab A	Lab B	Roquefort
<i>Aspergillus fumigatus</i>	22	5	27
<i>Candida</i> spp.	0	1	1
Total	22	6	28

Annexe 6. Tableau général des résultats d'analyses bactériologiques (en nombre de prélèvements) de laits issus de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort) : co-infections.

SCN = Staphylocoque à coagulase négative

CO-INFECTIONS	Lab A	Lab B	Roquefort
<i>S. aureus</i>	5	4	9
SCN	28	12	40
Autres Gram +	17	6	23
Total Gram +	50	22	72
Entérobactéries	10	5	16
Non Entérobactéries	1	2	2
Total Gram -	11	7	18
Autres	13	3	16
Total	74	32	106

Annexe 7. Détails (en nombre de prélèvements) des principaux *Micrococcaceae* isolés de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort) : co-infections.

SCN = Staphylocoque à coagulase négative

CO-INFECTIONS – GRAM+	Lab A	Lab B	Roquefort
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	4	9
SCN	7	2	9
<i>Staphylococcus capitis</i>	1	1	2
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	1	0	1
<i>Staphylococcus hyicus</i>	2	0	2
<i>Staphylococcus hominis</i>	0	1	1
<i>Staphylococcus intermedius</i>	0	3	3
<i>Staphylococcus lentus</i>	5	0	5
<i>Staphylococcus simulans</i>	3	1	4
<i>Staphylococcus xylosus</i>	5	1	6
<i>Staphylococcus warneri</i>	1	0	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	3	5
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	0	1
<i>Streptococcus</i> non identifiable	2	0	2
<i>Streptococcus</i> groupe D	6	0	6
<i>Streptococcus bovis</i> II1	0	3	3
<i>Streptococcus equisimilis</i>	1	0	1
<i>Streptococcus lactis</i>	1	0	1
<i>Streptococcus mitis</i>	1	1	2
<i>Streptococcus oralis</i>	1	0	1
<i>Streptococcus species</i>	2	0	2
<i>Streptococcus suis</i>	1	0	1
<i>Enterococcus</i> non identifiable	1	1	2
<i>Enterococcus faecium</i>	1	1	2
Total	50	22	72

Annexe 8. Détails (en nombre de prélèvements) des principaux groupes de Gram - isolées de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort) : co-infections.

CO-INFECTIIONS – GRAM-	Lab A	Lab B	Roquefort
<i>Escherichia coli</i>	8	1	9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0	1
<i>Klebsiella terrigena</i>	1	0	1
<i>Serratia spp</i>	0	2	2
<i>Citrobacter freundii</i>	0	1	1
Entérobactérie non identifiable	0	1	1
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	1	0	1
<i>Pasteurella multocida</i>	0	1	1
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	0	1	1
Total	11	7	18

Annexe 9. Détails (en nombre de prélèvements) des bactéries appartenant à la catégorie « Autres » isolées de mammites cliniques dans les 2 laboratoires et total (Roquefort) : co-infections.

CO-INFECTIIONS – AUTRES	Lab A	Lab B	Roquefort
<i>Aspergillus fumigatus</i>	6	3	9
Levures	1	0	1
<i>Proteus</i>	3	0	3
<i>Leuconostoc spp.</i>	1	0	1
Bacille Gram+ long	2	0	2
Total	11	3	16

Annexe 10. Nombre de laits ovins provenant de mammites cliniques analysés dans les laboratoires A et B en fonction des campagnes laitières.

	Lab A	Lab B	Roquefort
1998	25	-	25
1999	11	-	11
2000	22	11	33
2001	9	12	21
2002	14	17	31
2003	41	4	45
2004	24	18	42
2005	26	3	29
Total	172	65	237

Glossaire

ANC: Acide nalidixique

AOC: Appellation d'origine contrôlée

BHI: Brain Heart infusion

CLO: Contrôle laitier officiel

CLS: Contrôle laitier simplifié

CMT: Californian mastitis test

CS: Colombia au sang

ENVT: Ecole nationale vétérinaire de Toulouse

H: Hektoen

IA: Insémination artificielle

Lab A: Laboratoire A

Lab B: Laboratoire B

PA: Pyrénées-Atlantiques

S: Sélénite

SCN: Staphylocoque à coagulase négative

SCP: Staphylocoque à coagulase positive

T: Thioglycolate

Bibliographie

1. AL-SAMARRAE SA, SHARMA VK, YOUSIF AA.
Mastitis in sheep in Iraq. *The Veterinary Record*, 1985;116:323.
2. ALANI FK.
Experimental studies on *Pasteurella mastitis* in ewes. *Large Animal Practice*, 1997; 28:30-32.
3. ALLER GANCEDO JM, FREGENEDA GRANDES JM, DIEZ MF.
Mastitis by *Aspergillus fumigatus* in sheep. *Rev Iberoam Micol*, 2000; 17:13-17.
4. BERGONIER D.
Les mammites de la brebis laitière : étiologie et épidémiologie. In: Intervet, ed. *Actualités sur la maîtrise des infections mammaires des brebis laitières*, 2005; 14-26.
5. BERGONIER D, BERTHELOT X, ROMEO M, *et al.*
Fréquence des différents germes responsables de mammites cliniques et subcliniques chez les petits ruminants laitiers. *Sixth International Symposium on the Milking of Small Ruminants*, 1998; 130-136.
6. BERGONIER D, DE CRÉMOUX R, LAGRIFFOUL G, *et al.*
Etiologie et épidémiologie des mammites. *Le point vétérinaire 2002*; Pathologie ovine et caprine: 40-45.
7. BERGONIER D, DE CRÉMOUX R, LAGRIFFOUL G, *et al.*
Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary research*, 2003; 34:689-716.
8. BURRIEL AR.
Dynamics of intramammary infection in the sheep caused by coagulase-negative staphylococci and its influence on udder tissue and milk composition. *The Veterinary Record*, 1997; 140:419-423.
9. BURVENICH C, VAN MERRIS V, MEHRAZD J, *et al.*
Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Veterinary research*, 2003; 34:521-564.
10. CARRETTO E, BARBARINI D, COUTO I, *et al.*
Identification of coagulase-negative staphylococci other than *Staphylococcus epidermidis* by automated ribotyping. *Clinical Microbiology and Infection*, 2005; 11:177.
11. DEINHOFER M, PERNTHANER A.
Staphylococcus spp. as mastitis-related pathogens in goat milk. *Veterinary Microbiology*, 1995; 43:161-166.
12. DEVRIESE LA, SCHLEIFER KH, ADEGOKE GO.
Identification of coagulase-negative staphylococci from farm animals. *The Journal of Applied Bacteriology*, 1985; 58:45-55.
13. EUZÉBY JP.
Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire, 2005. <http://www.bacterio.cict.fr/>

14. FTHENAKIS GC, JONES JET.
The effect of inoculation of coagulase-negative staphylococci into the ovine mammary gland. *Journal of Comparative Pathology*, 1990; 102:211-219.
15. FTHENAKIS GC, MARPLES RR, RICHARDSON JF, *et al.*
Some properties of coagulase-negative staphylococci isolated from cases of ovine mastitis. *Epidemiology and infection*, 1994; 112:171-176.
16. GUITIERREZ LM, MENES I, GARCIA ML, *et al.*
Characterization and enterotoxigenicity of Staphylococci isolated from mastitic ovine milk in Spain. *Journal of Food Protection*, 1982; 45:1282-1286.
17. GUTIERREZ LM, GARCIA LOPEZ ML, OTERO A, *et al.*
Incidence of staphylococci in ovine mastitic milk and antibiotic susceptibility of the strains. *Milchwissenschaft*, 1990; 45:778-781.
18. INDREBO A, MOSDOL G.
Mastitis in ewes. Bacterial findings and sensitivity to antibiotics. *Norsk Veterinaertidsskrift*, 1991; 103:107-113.
19. KIRK J, HUFFMAN EM, ANDERSON BC.
Mastitis and udder abnormalities as related to neonatal lamb mortality in shed-lambing range ewes. *Journal of Animal Science*, 1980; 50:610-616.
20. KIRK J, MELLEBERGER R.
Mastitis control program for *Pseudomonas* mastitis in dairy cows. University of California Davis, 2006.
21. KIRK JH, GLENN JS, MAAS JP.
Mastitis in a flock of milking sheep. *Small Ruminant Research*, 1996; 22:187-191.
22. KORNEL D.
A note on mastitis in Corriedale ewes. *Indian Veterinary Journal*, 1992; 69:357-358.
23. KVITRUD A, LYSNE I.
Examinations of mastitis in sheep. *Nordik Veterinary Medicine*, 1959; 11:129-140.
24. LAFI SQ, AL MAJALI AM, ROUSAN MD, *et al.*
Epidemiological studies of clinical and subclinical ovine mastitis in Awassi sheep in northern Jordan. *Preventive Veterinary Medicine*, 1998; 33:171-181.
25. LAGRIFFOUL G.
La maîtrise des infections mammaires: un enjeu de filière. In: Intervet, ed. *Actualités sur la maîtrise des infections mammaires des brebis laitières*, 2005; 5-11.
26. LAGRIFFOUL G, BILLON P, MARAVAL E.
La traite mécanique des brebis: état du parc des machines à traire et relations avec la qualité du lait. In: Institut de l'élevage, édition janvier 2003.
27. COMITE NATIONAL BREBIS LAITIÈRES.
Enquête mammite et comptages de cellules somatiques - Elevages en contrôle laitier officiel - Campagne 1999, 2000.

28. LAS HERAS A, VELA AI, FERNANDEZ E, *et al.*
Unusual outbreak of clinical mastitis in dairy sheep caused by *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002; 40:1106-1108.
29. MARCO JC, ROMEO M, SALAZAR LM, *et al.*
Estudia microbiologica sobre mamitis ovinas en la oveja lacha. *ITEA Prod Anim*, 1991; 11:721-723.
30. MORIN E, FRAYSSE J.
Les systèmes ovins lait en France. Diversité des systèmes d'exploitation - Repères techniques et économiques.: Institut de l'élevage, 2005.
31. PEREZ V, CORPA JM, GARCIA MARIN JF, *et al.*
Mammary and systemic aspergillosis in dairy sheep. *Veterinary Pathology*, 1998; 35:235-240.
32. PONCELET JL.
Le tarissement: une phase-clé pour assainir le troupeau et préparer la nouvelle lactation. L'avis du praticien. In: Intervet, ed. *Actualités sur la maîtrise des infections mammaires des brebis laitières*, 2005; 79-84.
33. POUTREL B.
Les staphylococques coagulase-négative impliqués dans les infections mammaires: des pathogènes émergents. *Journées européennes de la buiatrie*, 2005; 151-156.
34. QUEIROGA MC, TAMAGNINI MFT, SAIANDA IM, *et al.*
Mastitis in sheep: causative microorganisms and their susceptibility to chemotherapeutic agents. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinarias*, 1999; 94:132-140.
35. QUINLIVAN TD.
Survey observations on ovine mastitis in New Zealand stud Romney flocks. 2. The bacteriology of ovine mastitis. *New Zealand Veterinary Journal*, 1968; 16:153-160.
36. RAPOPORT E, VISHINSKY Y, HANOCH U, *et al.*
Outbreak of acute ovine mastitis caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Sixth International Symposium on the Milking of Small Ruminants*, 1999; 192-195.
37. SAETER E, EIELAND E.
Ovine mastitis in mountain districts in Norway. *Nordik Veterinary Medicine*, 1961; 13:32-44.
38. SARATSIS P, LEONTIDES L, TZORA A, *et al.*
Incidence risk and aetiology of mammary abnormalities in dry ewes in 10 flocks in southern Greece. *Preventive Veterinary medicine*, 1998; 37:173-183.
39. SEGURA O.
Etiologie des mammites cliniques des ovins laitiers en Pyrénées-Atlantiques. Thèse de doctorat vétérinaire. Toulouse, 2006.
40. SHOOP DS, MYERS LL.
Serologic analysis of isolates of *Pasteurella haemolytica* and *Staphylococcus aureus* from mastitic ewes. *American Journal of Veterinary Research*, 1984; 45:1944-1946.

41. TAPONEN S.
Identification of coagulase-negative staphylococci and their role in clinical and subclinical mastitis. *Journées européennes de la buiatrie*, 2005; 157-160.
42. TODHUNTER DA, SMITH KL, HOGAN JS.
Serratia species isolated from bovine intrammary infections. *Journal of Dairy Science*, 1991; 74:1860-1865.
43. TZORA A, FTHENAKIS GC.
Mastitis in dairy ewes associated with *Serratia marcescens*. *Small Ruminant Research*, 1998; 29:125-126.
44. WATKINS GH, JONES JET.
The effect of the intra-mammary inoculation of lactating ewes with *Pasteurella haemolytica* isolates from different sources. *Journal of Comparative Pathology*, 1992; 106:9-14.
45. WATSON DL, FRANKLIN NA, DAVIES HI, *et al.*
Survey of intramammary infections in ewes on the New England Tableland of New South Wales. *Australian Veterinary Journal*, 1990; 67:6-8.
46. WINTER P, COLDITZ IG.
Immunological responses of the lactating ovine udder following experimental challenge with *Staphylococcus epidermidis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2002; 89:57-65.

TOULOUSE, 2006

NOM : BAULEZ

PRENOM : BENJAMIN

TITRE : Etiologie des mammites cliniques des ovins laitiers dans le bassin de Roquefort.

RESUME :

Cette étude analyse rétrospectivement l'étiologie des mammites cliniques ovines dans le bassin de Roquefort à partir de l'ensemble des résultats d'analyses bactériologiques réalisés entre novembre 1998 et juin 2005 dans deux laboratoires. Un total de 239 échantillons de lait, provenant de 111 élevages, ont conduit à 341 isolements. Des résultats négatifs ont été obtenus dans 9,6% des cas. Les staphylocoques ont été les principaux agents isolés : staphylocoques à coagulase négative (SCN) (30,4%) ou *S. aureus* (28,1%). *Aspergillus fumigatus* (20%), les *Streptococcaceae* (12,3%), les entérobactéries (5,9%), *Pseudomonas* spp. (5,2%) et *M. haemolytica* (1,5%) arrivent ensuite. Parmi les SCN, *epidermidis*, *xylosus* et *lentus* sont les espèces les plus fréquentes.

Les fréquences d'isolement apparaissent liées au stade de lactation. *A. fumigatus* n'est isolé qu'à la mise bas. Ces résultats sont comparés à ceux d'une thèse homologue analysant l'étiologie des mammites ovines dans les Pyrénées-Atlantiques.

MOTS CLES : ETIOLOGIE - MAMMITES - OVINS - ROQUEFORT - STAPHYLOCOQUES

ENGLISH TITLE : Aetiology of dairy ewe clinical mastitis in the Roquefort area.

ABSTRACT :

The aetiology of the clinical mastitis which occurred in the Roquefort area during the period november 1998 to june 2005 was retrospectively investigated through a synthesis of the whole available bacteriological examination results from two laboratories. Data originated from 239 milk samples resulting from 111 dairy ewes' flocks and giving 341 isolates. Negative results were obtained in 9.6% of cases. Staphylococci were the main isolated organisms: coagulase negative Staphylococci (CNS) (30.4%) or *Staphylococcus aureus* (28.1%). *Aspergillus fumigatus* (20%), *Streptococcaceae* (12.3%), Enterobacteria (5.9%), *Pseudomonas* spp. (5.2%) and *M. haemolytica* (1.5%) were also isolated. Among the CNS, *epidermidis*, *xylosus* et *lentus* were the most frequent species.

Frequencies of isolation were associated with the lactation stage. These results are compared to an homologous thesis studying the aetiology of the clinical mastitis which occurred in dairy ewes' flocks of the Pyrénées-Atlantiques area.

KEY WORDS: ETIOLOGY - MASTITIS - OVINE - ROQUEFORT -STAPHYLOCOCCI