

Étude cellulaire et bactériologique sur les laits de troupeau de chèvres

par

M. ROGUINSKY*†, B. POUTREL*, J. P. SECO**, R. PILLET**

INTRODUCTION

La plupart des mammites cliniques constatées par l'éleveur de vaches laitières proviennent d'infections mammaires inapparentes, latentes ou subcliniques. Or ces dernières, par la perte en lait qu'elles entraînent, ont une incidence économique plus grande que les mammites cliniques (Roguinsky, 1978 *a*). Aussi, la prophylaxie de ces infections constitue la base du plan de lutte contre les mammites.

La mise en œuvre de cette prophylaxie et son contrôle reposent sur le dénombrement du lait de troupeau.

Il a, en effet, été montré qu'il existe une relation approchée mais significative entre le nombre de cellules somatiques et, d'une part, le pourcentage de quartiers infectés dans un troupeau (Westgarth, 1975) et, d'autre part, les pertes en lait et la teneur en matière grasse (Roguinsky, 1978 *b*). Ainsi, le seuil de 400 000 cellules/ml a été retenu en France comme seuil d'intervention.

Chez la chèvre, il est difficile actuellement d'envisager une prophylaxie s'appuyant sur les mêmes bases, car on ne dispose pas de données suffisantes sur la numération cellulaire du lait de troupeau, ni sur sa relation avec les infections mammaires. La numération cellulaire a fait l'objet de quelques travaux revus par Smith et Roguinsky (1977), et Cardoen (1977) a donné quelques indications sur le niveau cellulaire du lait de troupeau sans le relier à la bactériologie. Cette dernière a été seulement étudiée au niveau du lait individuel (Smith et Roguinsky, 1977).

* Station de Pathologie de la Reproduction, I.N.R.A. - 37380 Nouzilly.

** Directeur adjoint

** Directeur du laboratoire

Association Centrale des Laiteries - 17700 Surgères.

Dans ce travail, nous nous sommes proposés de définir les types d'infection et le niveau cellulaire devant être pris en compte pour les laits de troupeau, ainsi que leurs corrélations, afin d'offrir une base mieux fondée à la prophylaxie des mammites chez la chèvre.

MATERIEL ET METHODES

Nous avons d'abord utilisé pour cette étude les renseignements fournis par le Contrôle Laitier sur 118 laits de troupeau de la Vienne. Environ tous les mois étaient ainsi notés : le nombre de chèvres traitées, le nombre de cellules du lait du troupeau mesuré par le compteur Fossomatic de Surgères, le litrage global, et le taux de matière azotée mesuré par la méthode Noir Amido. Sur 42 de ces laits prélevés par tirage au sort, une analyse des relations cellules-litrage moyen et cellules-taux de matière azotée a été effectuée. Sur ces 118 laits, une analyse de la distribution du nombre de cellules a été réalisée par division en six classes (de 400 000 en 400 000 et plus de 2 000 000) et calcul de la conformité avec une distribution log-normale par le test de X^2 .

Ensuite, 46 laits de troupeau de la Vienne, de la Charente et de la Charente-Maritime prélevés trois fois à environ un mois d'intervalle, ont été soumis à l'analyse cellulaire et bactériologique.

1. Analyses cellulaires

L'analyse cellulaire a consisté à mesurer le nombre de cellules par les compteurs Fossomatic de Surgères et Coulter de Nouzilly en utilisant la même méthode et les mêmes calibrages que pour le lait de vache, et en un California Mastitis Test (C.M.T.) effectué et noté à Nouzilly selon la technique décrite pour le lait de vache (Roguinsky, 1969). Pour les analyses de corrélation, le C.M.T. a été noté comme suit : 0 = 0, \pm = 1, + = 2, ++ = 3, +++ = 4. Quelques échantillons arrivés mal numérotés, congelés ou acides, ont donné des résultats non utilisables en numération cellulaire. De ce fait, seuls 34 laits ont été comptés trois fois, comme prévu.

2. Analyses bactériologiques

a) Recherche des staphylocoques

Les 46 laits ont étéensemencés chaque fois à raison de 0,01 ml sur une demi-boîte de Pétri contenant des milieux sélectifs pour staphylocoques, TGC (Sevel et Plommet, 1960) ou BPG. Ce dernier milieu a la composition suivante (Roguinsky, non publié) : gélose Baird-Parker (BD Mérieux) 60 g, Eau QSP 1 l. Stériliser à 115° C 20 min ; ramener à 45° C. Ajouter globules rouges de mouton lavés trois fois en eau physiologique 50 ml, facteur CAMP 10 ml, tellurite de potassium en solution à 1 p.100 10 ml, gonacrine (Specia) en

solution à 1 pour 100 000, 5 ml. Pour rechercher les corrélations, le nombre de colonies de Staphylocoques, le diamètre des zones d'hémolyse et le nombre de colonies non hémolytiques ont été notés.

b) Recherche d'autres germes

Pour chaque troupeau, 2 échantillons sur 3 ont été ensemencés sur les quatre milieux suivants : TKT (Hauge et Kohler-Elligsen, 1953) additionné de 5 pour 100 000 de citrate de fer pour la recherche des streptocoques, milieu King B avec nitrofurantoinne 5 pour 100 000 pour *Pseudomonas* (Thom *et al.*, 1971), milieu PPLO Difco pour mycoplasmes additionné d'extrait de levure 0,6 p.100, glucose 0,2 p.100, pénicilline 500 U/ml, colimycine 3 000 U/ml, sérum de cheval 20 p.100, pH 7,8, milieu 3 NI pour *Streptococcus uberis*.

Ce milieu 3 NI a la composition suivante : Gélose à l'acide nalidixique (Institut Pasteur) 30 g, Inuline 10 g, acide déhydrocholique (Sigma) 1 g, Tris (hydroxyméthyl-aminométhane Prolabo) 0,1 g, Rouge neutre (RAL) en solution à 1 p.100 2 ml. Stériliser 110° C 20 min. Ramener à 45° C. Ajouter néomycine en solution à 0,1 p.100, 2 ml. Sur ce milieu, les colonies de *S. uberis* sont rouge-vif, les colonies des autres espèces bactériennes blanches ou rosées (Roguinsky, résultats non publiés).

RESULTATS

1. Analyses cellulaires

La distribution des numérations cellulaires sur les 118 laits est log-normale avec une médiane et moyenne géométrique de 1,1 million par ml (c'est-à-dire que la moitié des troupeaux est au-dessous ou au-dessus de cette valeur). Il faut toutefois en exclure les résultats à partir du mois d'octobre, quand plus de la moitié des chèvres du troupeau sont tarées. On constate à cette période des augmentations importantes (jusqu'à quatre fois la moyenne des mois précédents), et donnant des résultats sans relation avec les valeurs obtenues auparavant. Les nombres de cellules ont été calculés à partir d'une moyenne de 6,2 résultats par troupeau.

Sur les 42 laits, il existe une corrélation négative entre le nombre de cellules et le litrage moyen par chèvre. La perte de lait est d'environ 8 p.100 par million de cellules. Par contre, il n'existe pas de corrélation significative entre le nombre de cellules et le taux de matière azotée.

Sur les 34 laits sur 46 examinés trois fois en numération cellulaire, la corrélation Coulter-Fossomatic est égale à 0,79, le Fossomatic donnant des résultats plus élevés que le Coulter (1 292 000 contre 1 105 000 en moyenne). Les corrélations Coulter/staphylocoques ($r = 0,33$) et Coulter/CMT ($r = 0,67$) sont meilleures que les corrélations Fossomatic/staphylocoques ($r = 0,13$ non significatif) et Fossomatic/CMT ($r = 0,59$).

2. Analyses bactériologiques

Sur 138 (46 laits \times 3) examens bactériologiques, 55 se sont révélés positifs. A l'exception d'un isolement de *Streptococcus durans* sur milieu TKT et d'un isolement de *Pseudomonas* sur milieu 3 NI, les 53 autres ont permis d'isoler et de caractériser, à partir des milieux TGC et BPG, des colonies de *Staphylococcus aureus*. Les résultats des milieux TGC et BPG sont identiques pour le nombre de colonies de Staphylocoques hémolytiques, le diamètre des zones d'hémolyse et le nombre de colonies de germes non hémolytiques.

DISCUSSION

La distribution du nombre de cellules du lait de chèvre est log-normale, comme celle des cellules du lait de vache (Ali et Shook, 1978). Toutefois, la médiane est nettement supérieure chez la chèvre puisque la valeur pour l'ensemble des troupeaux bovins soumis au contrôle était de 352 000 en 1976 (Roguinsky, 1978 a). Ceci est dû à la présence de nombreuses cellules épithéliales qui se desquament entières ou presque chez la chèvre alors qu'elles sont sous forme de petits débris non comptés chez la vache (Okada, 1960).

On peut choisir comme limite commode le chiffre de 1 million de cellules comme seuil de la prophylaxie des infections mammaires, chiffre équivalent aux 400 000 retenus pour le lait de vache. La plupart de ces laits proviennent de troupeaux infectés par des staphylocoques. Vingt et un des 34 laits examinés trois fois ont plus d'un million de cellules comptées au Coulter. 18 sur 21 (86 p. 100) contiennent des staphylocoques : l'un des trois autres laits a permis d'isoler *S. durans*, un autre *Pseudomonas* une fois. Il est donc possible que dans les trois cas, l'inflammation soit due à la présence dans les mamelles de bactéries autres que les staphylocoques. Sur les 13 laits ayant moins de 1 million, 7 (54 p. 100, différence significative) montrent la présence de staphylocoques. Le seuil de 1 million n'est donc qu'une limite commode, mais il permet pratiquement de ne pas englober des laits non infectés.

La perte de lait due à un nombre de cellules élevé est un peu inférieure à celle calculée pour le lait de vache (Roguinsky, 1978 b). Elle peut justifier la prophylaxie entreprise contre les infections mammaires, le coût de cette prophylaxie étant probablement au plus égal à celui de la vache (30 F par animal et par an, Roguinsky, 1978 b).

Si l'on estime la production moyenne à 450 l par lactation, payé 1,30 F le litre (Le Jaouen, 1976), le seul coût des pertes de lait par chèvre est supérieur ($8/100 \times 1,1 \times 450 \times 1,30$ F = 51 F).

L'absence de corrélation entre nombre de cellules et taux de matière azotée pour le lait de troupeau de chèvre a été également

indiquée pour le lait de troupeau de vache. En effet, chez la vache, le nombre de cellules exerce une influence au niveau du lait de quartier sur le taux de matière azotée mesuré par les méthodes habituelles (Noir Amido ou IRMA) ; mais cette influence est probablement trop faible pour se retrouver au niveau du troupeau (Grappin, Jeunet et Roguinsky, 1970). De fait cette influence ne se retrouve déjà plus au niveau du lait de vache (Grappin, Jeunet et Roguinsky, résultats non publiés).

Le Coulter semble supérieur au Fossomatic pour la numération des cellules impliquées dans la réaction due à la présence de germes pathogènes, si l'on en juge par la meilleure corrélation avec le nombre de staphylocoques. Il est possible que le Fossomatic compte des noyaux sans cytoplasme et, de ce fait, trop petits pour être comptés au Coulter ; ces noyaux proviendraient des cellules épithéliales de la mamelle et non des polynucléaires. Toutefois, seule une étude histologique détaillée permettrait de préciser ce point.

Enfin, les résultats bactériologiques confirment la prédominance des staphylocoques (Smith, Roguinsky, 1977), seuls germes à être isolés régulièrement sur leurs milieux sélectifs. Aucun streptocoque « classique » de mammite (*S. agalactiae* ou *S. uberis*) n'a pu être isolé sur les milieux TKT ou 3NI, aucun mycoplasme sur milieu PPLO, ni aucun *Pseudomonas* sur milieu de Thom. Toutefois, on sait que les quartiers de chèvres peuvent être infectés par d'autres streptocoques ou d'autres gram-négatifs (Smith, Roguinsky, 1977).

Le BPG donne les mêmes résultats que le TGC pour l'isolement des staphylocoques à partir du lait de chèvre. Quelques essais indiqueraient qu'il est également utilisable pour le lait de vache. Il est plus facile à utiliser pour les laboratoires que le TGC, dans la mesure où la gélose de base prête à l'emploi est disponible dans le commerce, alors qu'il faut préparer le TGC. Toutefois les milieux BPG et TGC doivent s'utiliser dans ce cas avec des globules rouges et non de l'émulsion d'œuf, dans la mesure où les staphylocoques de mammite sont apparemment lécithinase négatifs (Sandvik, 1971).

Résumé

Des examens cellulaires (Coulter, Fossomatic, C.M.T.) et bactériologiques (sur milieux sélectifs) ont été réalisés sur 46 laits de troupeau de chèvre.

La distribution du nombre des cellules est log-normale avec une moyenne de 1 100 000 par ml. Le Coulter apparaît supérieur au Fossomatic pour la numération cellulaire. On suggère d'utiliser le seuil de 1 million de cellules comme limite pratique pour la mise en œuvre de la prophylaxie des mammites chez la chèvre.

Les germes isolés sont dans leur quasi-totalité des staphylocoques. Le milieu Baird-Parker aux globules rouges additionné de gonacrine permet d'obtenir un isolement similaire à celui obtenu sur milieu TGC.

Summary

46 herd goat milks have been studied by cellular (Coulter, Fossomatic, CMT) and bacteriological examination on selective media.

The distribution of the cell number is log-normal, with a mean of 1 100 000 by ml. Coulter seems to be better than Fossomatic for the cell count. One milion cells by ml is suggested as a practical limit for the utilization of mastitis control on goat herds.

The germs isolated are almost all staphylococci. Baird-Parker medium with red blood cells and gonacrine gives identical results to the TGC medium.

Reçu pour publication en décembre 1979.

Références

- ALI (A. K. A.) and SHOOK (G. E.) (1978). — *J. Dairy Sci.*, 61, supp. 1, 78-79.
 CARDOEN (J. M.) (1977). — Thèse Doct. Vét., Alfort.
 GRAPPIN (R.), JEUNET (R.) et ROGUINSKY (M.) (1970). — *Le Lait*, 50, 491-510.
 HAUGE (S.) and KOHLER-ELLSGEN (J.) (1953). — *Nord. Vet. Med.*, 5, 539-547.
 LE JAOUEN (J. C.) (1976). — L'élevage caprin en France. Brochure Itovic, Paris.
 OKADA (M.) (1960). — *Tohoku J. agr. Res.*, 11, 31-44.
 ROGUINSKY (M.) (1969). — *Rech. Vét.*, 3, 41-48.
 ROGUINSKY (M.) (1978 a). — *Bull. Soc. Vét. Prat. Fr.*, 62, 405-410.
 ROGUINSKY (M.) (1978 b). — 4^e Congrès F.N.G.D.S.B., Biarritz, 69-81.
 SANDVIK (O.) (1971). — *Abstr. in Vet. Bull.*, 41, n° 1639.
 SEVEL (B.) et PLOMMET (M.) (1960). — *Le Lait*, 40, 2-8.
 SMITH (M. C.) and ROGUINSKY (M.) (1977). — *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 171, 1241-1248.
 THOM (A. R.), STEPHENS (M. E.), GILLESPIE (W. A.) and ALDER (V. G.) (1971). — *J. Appl. Bact.*, 34, 611-614.
 WESTGARTH (D. R.) (1975). — *Bull. F.I.L.*, 85, 110-115.

Le 18 janvier 1980 décédait dans sa 41^{me} année, des suites d'une longue maladie, le Docteur Vétérinaire Michel ROGUINSKY.

Après des études à l'Ecole Vétérinaire de Lyon (1963), il avait été recruté en 1966 à l'I.N.R.A. comme ingénieur, avec, pour thème de travail, les mammites. Son nom restera attaché à la vulgarisation des méthodes de prophylaxie, à laquelle il a consacré beaucoup de son temps, avec des qualités pédagogiques que chacun lui reconnaissait. Membre de la Société Française de Microbiologie, il avait acquis une réputation internationale dans le domaine des streptocoques.

Ceux qui l'ont connu ont apprécié sa curiosité intellectuelle et sa gentillesse naturelle. Son souvenir demeurera comme celui d'un homme ouvert et tolérant.

G. MOCOQUOT.