Identification rapide et spécifique des bactéries responsables de mammite par méthode PCR (Polymérase Chain Reaction)

Rapid and spécific identification of the mastitis-causing pathogens by Polymerase Chain Reaction (PCR)

CAPET M. (1)
(1) Oxygen Laboratoires d'Analyses, 840, rue Curie, 62161 Maroeuil, France

INTRODUCTION

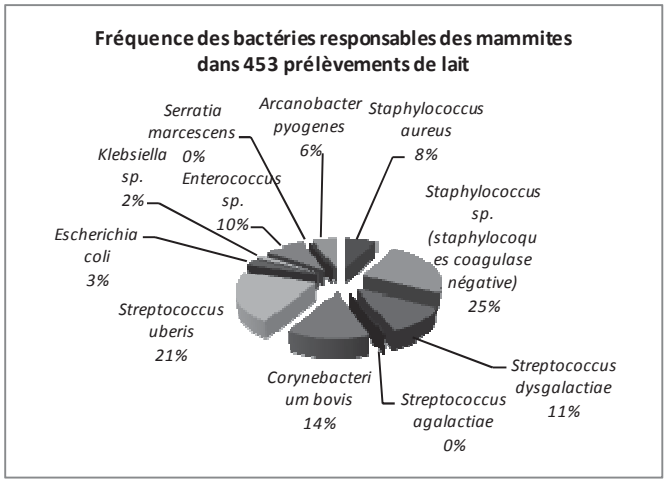
Le test de recherche de bactéries par méthode PCR permet la quantification simultanée de onze bactéries responsables de mammites qui représentent à elles seules la majorité des bactéries rencontrées lors d'infections mammaires. Utilisable pour déterminer la présence d'agents pathogènes dans des laits de tank (ou de quartier), il a permis de mettre en évidence la part que représente chacune des bactéries identifiées dans les échantillons analysés depuis un an. Les résultats obtenus ci-dessous ne concernent que les échantillons de tank.

1. MATERIEL ET METHODE

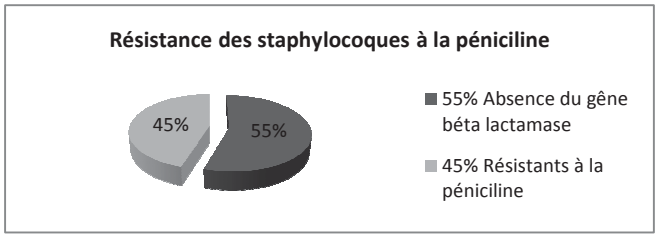
Le test de recherche de bactéries par méthode PCR repose sur la technique d'amplification en chaîne par polymérase. Cette méthode permet de multiplier une séquence spécifique d'ADN d'une bactérie :
Une première étape consiste à extraire l'ADN des différentes bactéries présentes dans l'échantillon grâce à des solvants qui cassent l'enveloppe des cellules. Cet ADN est ensuite filtré et purifié.
Dans une seconde étape, l'ADN est placé dans un thermo cycleur où il va être amplifié au cours de quarante cycles. Les séquences d'ADN dupliquées, lors d'un cycle servent de base de duplication aux cycles suivants. Cela permet une multiplication exponentielle du nombre de fractions d'ADN significatif. Durant cette phase de duplication un marqueur chimique fluorescent est fixé sur les séquences des bactéries dupliquées pour mesurer de façon semi-quantitative (+++, ++, +, +/-, -) par lecture spectrométrique, la présence des bactéries dans l'échantillon initial.
Onze bactéries peuvent ainsi être détectées simultanément, avec un résultat disponible en quatre heures.
Le prélèvement non stérile avec conservateur, permis par la méthode, facilite la prise d'échantillon et sa conservation. En effet, la méthode PCR utilisée ne nécessite pas que les bactéries soient vivantes.
Quatre cent cinquante-trois analyses de lait de tank ont ainsi pu être réalisées dans différents élevages en France. Sur l'ensemble de ces analyses, la présence d'un agent pathogène a pu être décelée mille sept cent cinquante-quatre fois (3.8 agents pathogènes en moyenne par analyse).
La présence du gène de résistance à la pénicilline (gène béta-lactamase) a pu également être mise en évidence afin de déterminer si les staphylocoques présents dans l'échantillon sont résistants ou non à la pénicilline.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La sensibilité de la méthode a permis d'identifier l'ADN bactérien de l'agent pathogène recherché même s'il est présent en faible quantité dans l'échantillon initial (+). Il en résulte que 59 % des bactéries identifiés dans ces analyses de tank sont des bactéries occasionnant des mammites à réservoir mammaire (*Staphylococcus aureus, Staphylococcus sp., Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis*). Les bactéries occasionnant des mammites à réservoir environnemental (*Escherichia coli, Klebsiella sp., Enterococcus sp., Serratia marcenscens, Arcanobacter pyogenes*) représentent 20 % des bactéries identifiés. Le *Streptococcus uberis*, pouvant à la fois engendrer des mammites à réservoir mammaire et environnemental, représente 21 % des bactéries rencontrées.



Les staphylocoques (*Staphylococcus aureus et Staphylococcus sp.*) représentent 32.6 % des bactéries identifiés dans les analyses de tank. 45 % d'entre eux sont résistants à la pénicilline :



CONCLUSION ET APPLICATIONS

La détection des agents pathogènes dans des échantillons de tank permet d'obtenir rapidement des résultats multibactériens fiables. La mise en évidence de certaines bactéries en faible quantité n'est pas inquiétante.
Cependant, à terme, elles peuvent constituer un risque d'émergence de mammites liées à ces types de bactéries et pourront participer à une mise en péril de l'équilibre bactérien de l'élevage.
En prenant connaissance des agents pathogènes émergeants dans des échantillons de tank, des mesures préventives peuvent être prises.
La mise en évidence du gène béta lactamase permet quant à elle d'apporter un élément supplémentaire sur le choix du traitement. Si la présence du gène beta lactamase est mise en avant dans la même proportion que les staphylocoques, les antibiotiques à base de pénicilline seront à proscrire pour le traitement des animaux.