

La TTGE (Temporal Temperature Gel Electrophoresis) : un outil d'identification des espèces bactériennes et de détection précoce des mammites dans les laits individuels ou de troupeau.

The Temporal Temperature Gel Electrophoresis (TTGE): a tool to identify bacterial species and detect early mastitis in individual or herd milks.

J.-C. OGIER (1), L. LE CORVAISIER (1), H. LARROQUE (2), Y. GALLARD (3), A. DELACROIX-BUCHET (1)

(1) INRA de Jouy-en-Josas, URLGA, 78352 Jouy-en-Josas

(2) INRA de Jouy-en-Josas, SGQA, 78352 Jouy-en-Josas

(3) INRA du Pin-au-Haras, SEA, 61310 Exmes

INTRODUCTION

Chez les ruminants laitiers, les infections de la mamelle (mammites) sont particulièrement fréquentes et coûteuses. La mise en évidence de mammites est difficile. Elle repose soit sur l'observation des premiers symptômes par l'éleveur, soit sur une mesure indirecte : les comptages de cellules somatiques (CSS) dans le lait. Dans les deux cas, la détection est généralement tardive et ne renseigne pas sur l'identité du germe impliqué. Nous avons testé ici une méthode de biologie moléculaire (TTGE) permettant d'identifier les espèces bactériennes responsables de mammites par analyse de l'ADN bactérien extrait du lait. Des laits de tanks de stockage et des laits individuels ont été échantillonnés à la ferme et analysés.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. PRELEVEMENT DES LAITS

Les échantillons de laits ont été prélevés au domaine INRA de Borculo (61 Le Pin-au-Haras), entre novembre 2002 et mars 2003. Nous avons d'abord réalisé un suivi de la microflore bactérienne au cours du stockage dans le tank de ferme (to, t+24h, t+48h) sur trois semaines consécutives. Puis nous avons analysé des laits individuels provenant de vaches atteintes de mammites ou des laits caractérisés par leur taux soit faible soit élevé de CCS.

1.2. ANALYSE DES LAITS PAR TTGE

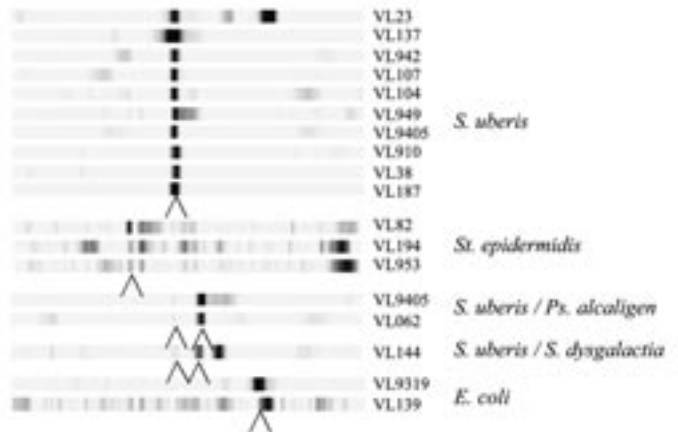
Après extraction de l'ADN total des laits, une région discriminante de l'ADNr 16S bactérien (la région variable V3) est amplifiée par PCR. Les fragments d'ADN obtenus sont ensuite séparés par électrophorèse en conditions dénaturantes (Ogier *et al.*, 2002). La communauté bactérienne est alors représentée par un profil où chaque bande électrophorétique correspond à une espèce. Les espèces sont identifiées par assignation à un référentiel d'espèces (env. 150 espèces) préalablement établi à partir des fragments d'ADNr 16S (région V3) de souches bactériennes pures.

2. RESULTATS

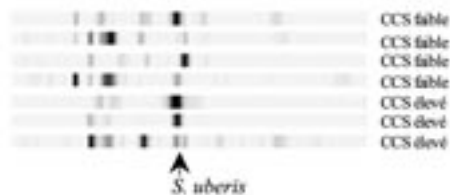
2.1. LAITS DE TANKS REFRIGERES



2.2. LAITS INDIVIDUELS DE MAMMITE



2.3. LAITS INDIVIDUELS A TAUX FAIBLE OU ELEVE DE CELLULES SOMATIQUES



3. DISCUSSION

La méthode TTGE s'est avérée efficace pour détecter rapidement la présence de contaminants dans les laits de tanks de refroidissement. La détection par TTGE de *S. uberis* dans le lait de tank précédait de deux semaines l'apparition des premiers symptômes de mammites au sein du troupeau. L'analyse de laits individuels infectés nous a permis d'identifier des espèces bactériennes différentes responsables de mammites (*S. uberis*, *Ps. alcaligenes*, *E. coli*, *S. dysgalactiae*). La bactérie *S. uberis* a aussi été détectée par TTGE dans des laits présentant des taux de CCS élevés, mais également dans deux laits à taux de CSS faible.

CONCLUSION

La technique TTGE est efficace pour identifier de façon rapide (2 à 3 jours) et spécifique la microflore bactérienne des laits crus. Elle devrait s'avérer très utile à la profession laitière en permettant 1) une détection précoce des mammites et 2) une identification de façon spécifique des bactéries impliquées. Elle pourrait ainsi compléter la mesure du nombre de cellules somatiques pour évaluer l'état sanitaire des troupeaux laitiers.

Ogier, J.-C., Son, O., Gruss, A., Tailliez, P., Delacroix-Buchet A., 2002. Appl. Env. Microb., 68, 3691-3701.