

République Algérienne Démocratique et
Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et
la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences

En Sciences Vétérinaires

Thème :

SUIVI DE QUELQUES ELEVAGES BOVINS LAITIERS A L'OUEST DU PAYS :

**Etude des facteurs influençant l'apparition et/ou le maintien des mammites
fongiques.**

Présentée par : BENBELKACEM Idir

Directrice de thèse : Pr. AISSI Miriem (ENSV- Alger)

Membres du Jury :

Président	Dr. LAHOUESSA Hicham	M.C.A.	E.N.S.V.-ALGER
Directrice de thèse	Pr. AISSI Miriem	Professeur	E.N.S.V.-ALGER
Examineurs	Pr. ABDELHADI Si ameur	Professeur	I.S.V.-TIARET
	Pr. BOUCIF Ahmad	Professeur	I.S.V.-TIARET
	Dr. BAROUDI Djamel	M.C.A.	E.N.S.V.-ALGER
	Dr. LAATAMNA Abdelkrim	M.C.A.	Université de Djelfa

Soutenue publiquement, le : 07 Juillet 2019

Année universitaire : 2018/2019

Résumé

La première partie de notre étude visait à mesurer la prévalence de la mammite fongique et l'impact de certains facteurs de risque, en particulier la note de l'état corporel (*Body Condition Score* : *BCS*), l'hygiène de la mamelle (*Udder Hygiene Score* : *UHS*) et le score lésionnel de l'orifice du trayon (*Teat-end Score* : *TEL*), sur la prévalence des mammites mycosiques au niveau de quelques élevages Algériens. Une étude transversale a été menée au niveau de 8 troupeaux laitiers situés dans la région de Tiaret. L'état clinique de 752 quartiers a été déterminé par un examen clinique et par le test du CMT (*California Mastitis Test*). Le BCS, l'UHS et l'état de l'extrémité des trayons ont été évalués visuellement, et les levures à l'origine de la mammite ont été identifiées à l'aide du système 20C API AUX. L'identification des moisissures était basée sur les critères macroscopiques et microscopiques des colonies. Les associations entre les variables étudiées et la prévalence des mammites ont été analysées statistiquement à l'aide du rapport de côtes (*Odds Ratio* : *OR*). Les résultats ont montré que les champignons représentent 5,75% des agents étiologiques de la mammite. *Candida sp.* était le genre le plus prédominant. L'espèce la plus fréquemment isolée était *Candida tropicalis*, suivie par *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus albidus*, *Geotrichum capitatum*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Penicillium sp.* L'analyse des données n'a révélé aucune association entre le BCS, l'UHS et l'incidence de la mammite mycosique ((*OR*) = 0,72 pour le BCS et (*OR*) = 0,56 pour l'UHS) ; Néanmoins, le TEL semble avoir un effet significatif sur la manifestation de ce type de mammite (*OR* = 1,047).

L'objectif de la deuxième partie de cette étude était d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles de *Cinnamomum aromaticum*, *Syzygium aromaticum* et de *Mentha spicata* vis-à-vis des bactéries et des levures isolées à partir du lait de vaches atteintes de mammite subclinique. La méthode de micro-dilution a été utilisée pour évaluer les activités antibactérienne et antifongique de ces huiles essentielles vis-à-vis de *Staphylococcus sp.* et des levures isolées à partir de lait de vaches atteintes de mammite subclinique. Les résultats ont montré que l'huile essentielle extraite de *Cinnamomum aromaticum* présentait une activité antimicrobienne satisfaisante vis-à-vis de toutes les bactéries testées à la concentration minimale inhibitrice de 0,625 µl/ml. Pour cette huile essentielle, la concentration minimale bactéricide variait entre 1,25 et 10 µl/ml. Pour les levures, les valeurs CMI variaient entre <0,0325 et 0,125 µl/ml pour tous les champignons testés avec des valeurs CMF de 0,625 à 2,5 µl / ml. Pour *Syzygium aromaticum*, les CMI variaient entre 1,25 et 5 µl / ml pour les

Staphylococcus sp. et entre 0,625 et 2,5 µl / ml pour les levures. Les valeurs CMB ainsi que les CMF variaient entre 2,5 et 1 µl / ml.

La présente étude souligne l'importance de la mammite mycosique et donne un aperçu précis sur l'aspect épidémiologique de la mammite mycosique dans les troupeaux laitiers algériens. L'activité antimicrobienne satisfaisante des huiles essentielles de *Cinnamomum aromaticum* et de *Syzygium aromaticum* vis-à-vis de *Staphylococcus sp.* et des souches de levure suggèrent que ces huiles pourraient être utilisées comme traitement alternatif de la mammite subclinique, limitant en conséquence l'expansion de la forme secondaire de la mammite mycosique consécutive au traitement antibiotique de la mammite staphylococcique pendant le tarissement.

Mots clés : Mammite mycosique ; Facteurs de risque ; Traitement alternatif ; Huiles essentielles.

Abstract

The first part of the current study aimed to investigate the prevalence of fungal mastitis and the impact of some risk factors, particularly body condition score (BCS), udder hygiene score (UHS) and teat-end lesions (TEL) on the outcome of mycotic mastitis in some Algerian dairy herds' conditions. A cross-sectional study was conducted in 8 dairy herds located in western Algeria. Clinical status of 752 quarters was determined by clinical examination and by California Mastitis Test (CMT). BCS, UHS and teat-end condition were assessed visually, and the mastitis-causing yeasts were identified using API 20C AUX system. Mould identification at the genera level was based on the macroscopic and microscopic criteria. Associations between the registered variables and udder health were statistically analyzed using the odds ratio (OR). Results showed that fungi represented 5.75% of mastitis etiological agents. *Candida* sp. was the most commonly isolated genus. The most frequent species was *Candida tropicalis* followed by *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus albidus*, *Geotrichum capitatum*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Penicillium* sp. Analysis of the data indicated no association between BCS, UHS and the incidence of mycotic mastitis ((OR) = 0.72 for BCS and (OR) = 0.56 for UHS); nevertheless, TEL seem to have a significant effect on the occurrence of this type of mastitis (OR= 1.047), which need to be considered in the control of the disease.

The objective of the second part was to assess the *in vitro* antibacterial and antifungal activities of *Cinnamomum aromaticum*, *Syzygium aromaticum* and *Mentha spicata* essential oils against bacteria and yeasts isolated from cows with subclinical mastitis. Broth micro-dilution method was employed in order to assess the *in vitro* antibacterial and antifungal activities of *Cinnamomum aromaticum*, *Syzygium aromaticum* and *Mentha spicata* essential oils, against *Staphylococcus* spp. isolates with different antibiotic resistance profile, and against yeasts isolated from cows with subclinical mastitis. The obtained results showed that the essential oil extracted from *Cinnamomum aromaticum* had a satisfactory antimicrobial activity against all tested bacteria at the minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.625 µl/ml. For this essential oil, the minimum bactericidal concentration (MBC) ranged between 2.5 and 10 µl/ml. For yeasts, the MIC values ranged between 0.325 and 1.25 µl/ml for all tested yeasts and minimum fungicidal concentration (MFC) values ranged between 0.625 µl/ml and 2.5 µl/ml. For *Syzygium aromaticum* essential oil, the MICs varied between 1.25 and 5 µl/ml for *Staphylococcus* sp. and between 0.625 and 2.5 µl/ml for yeasts. MBC and MFC ranged between 2.5 µl/ml and 10 µl/ml for all tested microorganisms.

The present study pointed out the importance of mycotic mastitis and gave insight into epidemiological aspects of mycotic mastitis in Algerian dairy herds. The satisfactory antimicrobial activity of the *Cinnamomum aromaticum* and *Syzygium aromaticum* essential oils against *Staphylococcus spp.* and yeast strains suggests that these oils could be used as an alternative treatment for subclinical mastitis, limiting consequently the expansion of the secondary form of mycotic mastitis consecutive to antibiotic treatment of staphylococcal mastitis during lactation or at the dry-off period.

Keywords: Mycotic mastitis; Risk factors; Alternative treatment, Essential oils.

ملخص

يهدف الجزء الأول من هذا البحث إلى دراسة مدى انتشار التهاب الضرع الفطري وتأثير بعض عوامل الخطر، وخاصة BCS، ودرجة نظافة الضرع (UHS) و (TEL) على تفشي مرض التهاب الضرع الفطري. وقد أجريت دراسة في 8 قطعان ألبان تقع في غرب الجزائر. تم تحديد الحالة السريرية لـ 752 ضرع عن طريق الفحص السريري واختبار التهاب الضرع كاليفورنيا (CMT). تم تقييم عوامل الخطر BCS، UHS، TEL، وتم تحديد الخمائر المسببة لالتهاب الضرع باستخدام API 20C AUX. استند تحديد العفن على المعايير المجهرية. تم تحليل إحصائي الارتباطات بين المتغيرات المسجلة وصحة الضرع باستخدام نسبة الأرجحية (OR). أظهرت النتائج أن الفطريات تمثل 5.75 % من العوامل المسببة لالتهاب الضرع. *Staphylococcus sp.* كان الجنس الأكثر شيوعاً. وكانت الأنواع الأكثر شيوعاً هي *Candida tropicalis*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus albidus*, *Geotrichum capitatum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Penicillium sp.* أشار تحليل البيانات إلى عدم وجود ارتباط بين BCS، UHS، TEL وحدوث التهاب الضرع الفطري (OR = 0.72 لـ BCS و OR = 0.56 لـ UHS و OR = 1.047 لـ TEL).

هدف الجزء الثاني من البحث هو تقييم الأنشطة المضادة للبكتيريا والفطريات للزيوت الأساسية المستخلصة من *Cinnamomum aromaticum* و *Syzygium aromaticum* و *Mentha spicata* ضد البكتيريا والخمائر المعزولة من الأبقار مع التهاب الضرع تحت الإكلينيكي.

تم استخدام طريقة micro-broth dilution من أجل تقييم النشاطات المضادة للبكتيريا والفطريات للزيوت الأساسية المستخلصة من *Cinnamomum aromaticum* و *Syzygium aromaticum* و *Mentha spicata* ضد الميكروبات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus spp*) وضد الخمائر المعزولة من الأبقار مع التهاب الضرع تحت الإكلينيكي. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الزيوت الأساسية المستخرجة من *Cinnamomum aromaticum* لها نشاط مُضاد للميكروبات ضد جميع البكتيريا المختبرة بأقل تركيز مثبط (MIC) قدره 0.625 ميكرو لتر / مل. بالنسبة لهذا الزيت، MBC تراوح بين 2.5 و 10 ميكرو لتر / مل. بالنسبة للخمائر، تراوحت قيم MIC بين 0.325 و 1.25 ميكرو لتر / مل لجميع الخمائر المختبرة وتراوحت قيم MFC بين 0.625 ميكرو لتر / مل و 2.5 ميكرو لتر / مل. بالنسبة للزيوت العطرية *Syzygium aromaticum*، تراوحت MICs بين 1.25 و 5 ميكرو لتر / مل بالنسبة لـ *Staphylococcus sp.* وبين 0.625 و 5 ميكرو لتر / مل بالنسبة للخمائر. تراوحت MBC و MFC بين 2.5 ميكرو لتر / مل و 10 ميكرو لتر / مل لجميع الكائنات الحية المجربة.

أشارت الدراسة الحالية إلى أهمية التهاب الضرع الفطري وأعطت نظرة ثاقبة للجوانب الوبائية لالتهاب الضرع الفطري في قطعان الألبان الجزائرية. كما أوضحت هذه الدراسة أهمية النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية المستخلصة من *Cinnamomum aromaticum* و *Syzygium aromaticum* ضد الميكروبات العنقودية الذهبية والخمائر مما يمكن استخدام هذه الزيوت كعلاج بديل لالتهاب الضرع تحت الإكلينيكي، مما يحد بالتالي من توسع الشكل الثانوي لالتهاب الضرع الفطري المتزامن مع العلاج بالمضادات الحيوية من التهاب الضرع بالميكروبات العنقودية أثناء فترة الرضاعة أو في بداية فترة النضوب.

كلمات البحث: التهاب الضرع الفطري، عوامل الخطر، العلاج البديل، الزيوت الأساسية.

DEDICACES

*Au nom de Dieu le clément et le miséricordieux qui par sa grâce
nous avons réalisé ce modeste travail.*

A mes très chers parents ;

*Que ce travail soit l'un des fruits témoignant de longues années de
bienveillance et leur apporte l'assurance de ma profonde affection.*

A ma femme et mon chère petit ange Nacéra Céline;

A mes très chers frères et sœurs ;

A ma grand-mère, mes oncles et mes tantes ;

A tous les membres de ma famille de près ou de loin ;

A tous mes amis ;

A toute personne qui m'a aidée durant tout mon parcours d'étude.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Madame **Aissi Miriem**, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire- Alger, qui m'a encadré tout au long de cette thèse et qui m'a fait partager ses brillantes intuitions. Qu'elle soit aussi remercié pour sa gentillesse, sa disponibilité permanente et pour les nombreux encouragements qu'elle m'a prodiguée.

J'adresse tous mes remerciements à Monsieur **Abdelhadi Si Ameer** et Monsieur **Boucif Ahmad**, Professeurs à l'Institut des Sciences Vétérinaires-Tiaret, ainsi qu'à Monsieur **Lahouassa Hicham** et Monsieur **Baroudi Djamel**, Maitres de conférences à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire- Alger, Monsieur **LAATAMNA Abdelkrim**, Maitre de conférences à l'Université de Djelfa, de l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'être examinateurs de cette thèse.

Madame **Ghazi Kheira**, Professeur à l'Institut des Sciences Vétérinaires-Tiaret, m'a prodigué de nombreux conseils pour bien débiter le troisième cycle universitaire dont cette thèse est l'accomplissement. Qu'elle en soit remerciée.

A Monsieur **Benallou Bouabdellah**, directeur de l'Institut des Sciences Vétérinaires-Tiaret.

J'exprime ma gratitude à Monsieur **Hammoudi Si Mohamed**, ancien directeur de l'Institut des Sciences Vétérinaires-Tiaret, pour son aide inconditionnelle.

Je tiens aussi à remercier Monsieur **Zidane Khaled** et Monsieur **Aggad Habib**, qui m'ont accueilli au sein de leurs laboratoires. C'est grâce à eux que j'ai pu concilier avec bonheur recherche théorique et appliquée pendant cette thèse.

Merci aussi à mon ami et collègue Monsieur **Selles Sidi Mohamed Ammar**, enseignant à l'institut des sciences vétérinaires-Tiaret, dont les thèmes de recherches ont fortement inspiré cette thèse.

Je tiens à remercier Madame **Khaldi Fatima**, doctorante à l'Institut des Sciences Vétérinaires- Tiaret pour sa collaboration et son sérieux.

Un grand merci aussi à tous les membres des laboratoires de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger ainsi qu'à ceux de l'Institut des Sciences Vétérinaires- Tiaret, et en particulier à Monsieur **Saadi Ahmad** et à Mademoiselle **Karima**.

Enfin, je tiens à remercier **tous les élèves**, qui m'ont fait confiance et m'ont accepté au sein de leurs élevages.

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

I. INTRODUCTION	1
-----------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1	Définition.....	5
2	Etiologie des mammites	5
3	Mode de vie des champignons	5
3.1	Champignons endogènes	6
3.2	Champignons exogènes	6
4	Espèces fongiques en cause.....	6
4.1	Champignons levuriformes :	6
4.1.1	Genre <i>Candida</i> sp.	6
4.1.2	Genre <i>Cryptococcus</i> sp.	8
4.1.3	Genre <i>Trichosporon</i> sp.	9
4.1.4	Autres genres levuriformes.....	9
4.2	Champignons filamenteux.....	9
4.2.1	Genre <i>Mucor</i>	9
4.2.2	Genre <i>Aspergillus</i>	10
4.2.3	Genre <i>Penicillium</i> sp.	12
4.2.4	Genre <i>Geotrichum</i> sp.	13
5	Pathogénie	14
5.1	Pénétration des germes dans la mamelle	14
5.2	Infection de la glande mammaire	15
5.2.1	Facteurs liés à l'animal	15
5.2.2	Facteurs liés à l'agent mycosique.....	16
5.2.3	Autres facteurs.....	16
5.3	Elaboration des substances toxiques	16
5.3.1	Toxines à action locale	17
5.3.2	Toxines à action générale	17
5.4	Dissémination de l'agent pathogène.....	17
5.5	Evolution de la mammite mycosique	18

6	Epidémiologie des mammites fongiques.....	18
6.1	Epidémiologie descriptive.....	18
6.1.1	Population affectée.....	18
6.1.2	Répartition géographique et fréquence.....	19
6.1.3	Aspect épidémiologique.....	19
6.2	Epidémiologie analytique.....	20
6.2.1	Sources et matières virulentes.....	20
6.2.2	Réceptivité.....	23
6.3	Epidémiologie synthétique.....	26
7	Diagnostic des mammites fongiques.....	26
7.1	Diagnostic épidémio-clinique.....	26
7.1.1	Circonstances d'apparition.....	27
7.1.2	Eléments de suspicion.....	27
7.2	Diagnostic expérimental.....	28
7.2.1	Diagnostic anatomopathologique.....	28
7.2.2	Diagnostic mycologique.....	29
7.2.2.3	Technique.....	29
7.2.3	Diagnostic biochimique.....	32
7.2.4	Diagnostic sérologique.....	33
7.2.5	Diagnostic moléculaire.....	34
8	Traitement des mammites fongiques.....	34
8.1	Traitement non-spécifique.....	34
8.1.1	Traitement sanitaire.....	34
8.1.2	Traitement médical.....	35
8.2	Traitement spécifique (les agents antifongiques).....	36
8.2.1	Toxicité des agents antifongiques.....	37
8.2.2	Résistance aux agents antifongiques.....	37
9.1.	Définition des huiles essentielles.....	38
9.2.	Aromathérapie.....	38
9.3.	Galénique des préparations à base d'HE.....	38
9.4.	Essaie de terrain.....	40
10.	Prophylaxie des mammites fongiques.....	42
10.1.	Prophylaxie médicale.....	42
10.2.	Prophylaxie sanitaire.....	43
10.2.1.	L'habitat.....	43
10.2.2.	Hygiène et technique de traite.....	44

10.2.3.	L'Alimentation	45
10.2.4.	La sélection génétique	45
10.3.	Conclusion.....	45

PARTIE EXPERIMENTALE

II.	MATERIEL & METHODES	47
1	Description de la région d'étude.....	47
2	Critères de choix des troupeaux	49
3	Dispositif expérimental :	49
	Partie 1.....	50
	3.1.1 Période d'étude.....	50
	3.1.2 Effectif des vaches laitières	50
	3.1.3 Plan de travail	50
	3.1.4 Au niveau des exploitations.....	51
	3.1.5 Au niveau du laboratoire	56
3.2	Partie 2.....	60
	3.2.1 Période de l'étude.....	60
	3.2.2 Effectif de vaches laitières.....	60
	3.2.3 Plan de travail	60
III.	RESULTATS	72
1.	Partie 1.....	72
	1.1. Prévalence des mammites.....	74
	1.2. Analyse mycologique des échantillons de lait.....	74
	1.3. Facteurs de risque de la mammite fongique	76
	1.3.1 Note de l'état corporel (<i>BCS : Body Condition Score</i>).....	76
	1.3.2 Etat d'hygiène de la mamelle (<i>UHS : Udder Hygiene Score</i>).....	77
	1.3.3 Note lésionnelle de l'orifice du trayon (<i>TEC : Teat-end Condition</i>).....	79
2.	PARTIE 2.....	80
	2.1. Prévalence et étiologie des mammites.....	80
	2.2 Résultats de l'antibiogramme	85
	2.3 Résultats de l'aromatogramme	88
	2.3.1 Méthode de diffusion sur disque	88
	2.3.2 Valeurs CMI et CMB/CMF.....	89
IV.	DISCUSSION	92

1	Partie 1.....	92
1.1	Prévalence des mammites.....	92
1.2	Facteurs de risque.....	94
1.2.1	Note de l'état corporel (<i>NEC</i>).....	94
1.2.2	Indice de propreté de la mamelle (<i>UHS</i>).....	96
1.2.3	Note lésionnelle de l'orifice du trayon.....	97
2	Partie 2.....	98
2.1	Protocole de l'étude.....	98
2.2	Prévalence des mammites.....	99
2.3	Antibiogramme.....	101
2.4	Aromatogramme.....	103
V. CONCLUSION & PERSPECTIVES		109
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		111

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Notation de l'état de l'orifice du trayon (<i>Teat end condition score card</i>).....	55
Tableau 2: Liste des disques d'antibiotique déposés dans les 2 boîtes pour la réalisation de l'antibiogramme.	67
Tableau 3: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Staphylococcus sp.</i> (MoARD et al., 2011).....	68
Tableau 4: Résultats bruts de la partie 1.	73
Tableau 5: Résultats de l'analyse mycologique (Partie 1).	75
Tableau 6: Influence de l'état corporel sur la prévalence de la mammite.....	76
Tableau 7: Influence de l'indice de propreté de la mamelle.	78
Tableau 8: Distribution des notes lésionnelles des trayons en fonction du test CMT.....	79
Tableau 9: Influence de la note lésionnelle de l'orifice du trayon sur la prévalence de la mammite... ..	80
Tableau 10: Prévalence des cas de mammites, moyenne du BCS et moyenne de l'UHS par élevage (Partie 2).....	81
Tableau 11: Bactéries isolées à partir de prélèvements de lait de mammite (Partie 2).....	84
Tableau 12: Agents mycosiques isolés à partir de prélèvements de lait de mammite (Partie 2).	85
Tableau 13: Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des antibiotiques.	86
Tableau 14: Moyennes des zones d'inhibition (mm) des 3 huiles essentielles.	88
Tableau 15: Activité antibactérienne des huiles essentielles (CMI, CMB, CMB/CMI).	90

LISTE DES FIGURES

Figure 1: <i>Candida albicans</i> (a) aspect macroscopique des colonies (b) aspect microscopique des levures (Kidd et al., 2016).	7
Figure 2: Tube germinatif de <i>Candida albicans</i> (Kidd et al., 2016).	7
Figure 3: <i>Cryptococcus neoformans</i> (a) <i>Cryptococcus neoformans</i> (colonies brunes) et <i>Candida albicans</i> (colonies blanches), (b) Coloration à l'encre de Chine de <i>C. neoformans</i> entourée d'une capsule gélatineuse caractéristique (Kidd et al., 2016).	8
Figure 4: Colonie de <i>Mucor circinelloides</i> (Kidd et al., 2016).	10
Figure 5: Principaux caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i> (Tubac, 2007).	12
Figure 6: Caractères morphologiques du genre <i>Penicillium</i> sp. (Tabuc, 2007).	13
Figure 7: <i>Geotrichum candidum</i> avec des arthroconidies (Kidd et al., 2016).	14
Figure 8: Carte géographique de l'Algérie avec la situation de la wilaya de Tiaret (Source : Wikipédia, 2017).	48
Figure 9: La wilaya (district) de Tiaret (Boulkaboul, 2003).	48
Figure 10: Grille de notation de l'état corporel (Edmonson et al., 1989).	53
Figure 11: Grille de notation de l'état de propreté de la mamelle (Ruegg, 2002).	54
Figure 12: Schéma général de la méthode d'identification mycologique.	57
Figure 13: Schéma général de la méthode d'identification microbiologique du lait.	62
Figure 14: Résultats du test CMT (Partie 1).	74
Figure 15: Proportions de mamelles "propres" et de mamelles "sales".	77
Figure 16: Répartition de la prévalence des quartiers atteints de mammite subclinique en fonction de l'indice de propreté de la mamelle.	78
Figure 17: Distribution des notes lésionnelles des trayons en fonction du test CMT.	79
Figure 18: Prévalence des cas de mammites au niveau des élevages suivis (Partie 2).	82
Figure 19: Résultats de l'analyse bactériologique (Partie 2).	83
Figure 20: Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des antibiotiques.	86
Figure 21: Distribution des bactéries selon leurs profils de résistance aux différents antibiotiques. ...	87

I. INTRODUCTION

La mammite est une maladie multifactorielle qui se caractérise par des changements physiques, chimiques et microbiologiques de la sécrétion lactée, ainsi que des modifications pathologiques dans le tissu mammaire (Sharif et Muhammad, 2009). Elle constitue une dominante pathologique dans tous les troupeaux laitiers.

Par les pertes qu'elle peut engendrer, la mammite représente une préoccupation majeure des agriculteurs dans les pays en voie de développement comme l'Algérie. En effet, il s'agit de la maladie la plus coûteuse et la plus répandue dans l'industrie laitière. En Algérie, les pertes annuelles dues à cette pathologie sont estimées entre 230,6 et 327,7 millions de dollars américains (Kebbal et *al.*, 2010).

La plupart des cas de mammite sont d'origine infectieuse. En général, la mammite est due au développement de bactéries pathogènes dans le tissu mammaire ; cependant, durant les dernières années, plusieurs études ont rapporté l'implication des agents fongiques dans l'infection mammaire (Pengov, 2002 ; Bourtzi-Hatzopoulou et *al.*, 2003 ; Segundo-Zaragoza et *al.*, 2011, Ksouri et *al.*, 2015). En effet, la prévalence des mammites mycosiques est en augmentation significative au cours des dernières années (Spanamberg et *al.*, 2008) et cette condition peut être due à l'accumulation de plusieurs facteurs dits « facteurs de risque » (Fortier, 1990). De plus, il a été démontré que l'utilisation inappropriée des antibiotiques de même que le traitement par des solutions antibiotiques contaminées ont considérablement contribué à l'augmentation de l'incidence de cette pathologie (Segundo-Zaragoza et *al.*, 2011).

Des recherches préalables ont déjà mis en évidence l'existence de relation significative entre quelques pratiques de gestion des élevages et le statut sanitaire de la mamelle lié aux mammites fongiques (Zhou et *al.*, 2013 ; Benbelkacem et Aissi, 2012). D'une manière générale, il a été prouvé que l'amélioration des conditions d'hygiène réduit considérablement la prévalence de la mammite mycosique, améliorant par conséquent la qualité microbiologique du lait (Benbelkacem et Aissi, 2012).

Malgré les efforts déployés pour limiter l'incidence de cette pathologie, toutefois, vue la complexité des mécanismes pathogéniques ainsi que l'interaction entre les bactéries et les champignons, il est difficile de discerner cette pathologie. Cette situation se trouve compliquée par le recours massif à l'antibiothérapie dans le traitement et la prévention des mammites. En effet, en plus de l'influence des facteurs de risque, l'augmentation de la prévalence des mammites mycosiques au cours des dernières années a été attribuée à l'utilisation massive des antibiotiques dans le cadre du programme de contrôle préventif et curatif des mammites bactériennes (Krukowski et *al.*, 2000 ; Baumgartner et *al.*, 2008 ; da COSTA et *al.*, 2012).

Il est largement connu que le recours au traitement des infections mammaires au cours du tarissement constitue la pierre angulaire dans la gestion de la pathologie mammaire (Bradley, 2002). Néanmoins, même si cette mesure a considérablement contribué à la réduction de la prévalence des mammites contagieuses, cependant, elle est à l'origine de l'émergence d'agents pathogènes d'origine environnementale tels que *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli* ainsi que des agents fongiques responsables des mammites mycosiques (Barkema et *al.*, 1998 ; Bradley, 2002).

Etant donné que la plupart des agents antifongiques sont généralement toxiques pour le parenchyme mammaire et peuvent causer au parenchyme mammaire autant ou plus de dommages que l'infection mycosique elle-même, le recours aux agents antifongiques pour traiter ou prévenir la mammite mycosique n'est pas envisageable (Timoney et *al.*, 1988). Cette situation se trouve encore plus compliquée par l'absence de spécialité médicamenteuse à base de solutions antifongiques pour le traitement des mammites fongiques.

À la lumière de cette problématique et des préoccupations susmentionnées, il est nécessaire de développer des méthodes de traitement alternatif pour contrôler la mammite bactérienne et par conséquent limiter l'apparition des mammites mycosiques secondaires au traitement antibiotique.

Dans ce contexte, nous avons réalisé une étude expérimentale composée de deux parties. L'objectif de la première partie était de mesurer l'influence de quelques facteurs de risque (l'indice de propreté de la mamelle, la note lésionnelle de l'orifice du trayon et la note de l'état corporel) sur la prévalence de la mammite mycosique. Les résultats de la première étape de l'étude nous ont conduit à considérer l'interaction bactéries-champignons afin d'évaluer l'activité antimicrobienne de trois (03) huiles essentielles vis-à-vis de quelques souches

microbiennes (bactéries et champignons), isolées à partir de lait de vaches atteintes de mammites subcliniques, dans la perspective de proposer un traitement alternatif. Pour cette deuxième partie, les objectifs spécifiques étaient comme suit :

1. Calculer la prévalence des mammites fongiques et des mammites bactériennes ;
2. Mesurer l'antibiorésistance de quelques souches bactériennes appartenant au genre *Staphylococcus sp.* ;
3. Evaluer l'activité antistaphylococcique et antifongique des huiles essentielles extraites de la cannelle (*Cinnamomum aromaticum*), du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), et de la menthe (*Mentha spicata*).

Au terme de nos résultats, nous avons proposé des mesures sanitaires pour limiter l'incidence de cette pathologie. Cette recherche nous a également permis de mettre en évidence l'effet antifongique de certains extraits organiques de quelques huiles essentielles ; et les résultats soulignent l'intérêt de l'utilisation de ces huiles essentielles comme traitement alternatif des mammites bactériennes et des mammites fongiques secondaires au traitement antibiotique.

**PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE**

Mammites Mycosiques de la Vache Laitière

1 Définition

Une mammite est l'inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle, provoquée généralement par une infection bactérienne, par des levures, des algues microscopiques, ou suite à un traumatisme de la mamelle, ou encore suite à des désordres physiologiques, mais ces dernières sont beaucoup plus rares (Gedilaghine, 2005). C'est une pathologie multifactorielle qui résulte de l'interaction de plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques, en rapport avec les conditions de l'élevage et du mode de conduite du troupeau (Sharif et Muhammad, 2009).

2 Etiologie des mammites

Dans la plupart des cas, l'étiologie de la mammite est d'origine infectieuse. Elle est due aux bactéries mais parfois aux agents mycosiques. En effet, Pengov (2002) a pu isoler 187 espèces de levures et 34 espèces appartenant au genre *Prototheca* sp. à partir de lait de vaches présentant les signes de mammite clinique et subclinique. La grande majorité des mammites sont dues aux bactéries, mais il a été constaté un accroissement du nombre des rapports concernant l'étiologie fongique (Spanamberg *et al.*, 2008).

Il nous semble important d'avoir quelques connaissances de base sur les propriétés physiologiques des champignons pour pouvoir comprendre l'épidémiologie ainsi que le pouvoir pathogène des espèces fongiques impliquées dans la pathologie mammaire.

3 Mode de vie des champignons

Ni animal, ni végétal, les champignons, ou *Fungi*, sont des organismes nucléés (Eucaryotes), constituant un groupe autonome au sein du monde vivant. Leur structure primordiale est un thalle dépourvu de pigment assimilateur, dénommé « mycélium » chez les Champignons. Ils se comportent donc nécessairement en hétérotrophes vis-à-vis du carbone et utilisent les matières organiques comme source d'énergie. Cette particularité est liée d'une part à l'absence de chlorophylles chez les champignons et d'autre part au mode de nutrition qui se fait par absorption et détermine le mode de vie de ces champignons qui peut aller de la symbiose au parasitisme en passant par le saprophytisme (Tabuc, 2007).

Les agents des mycoses peuvent avoir une origine endogène ou exogène (Segretain et *al.*, 1974):

3.1 Champignons endogènes

C'est le cas classique de *Candida* sp. Ces champignons se développent à l'état saprophytique sur les muqueuses et sur la peau des sujets sains.

De nombreuses études ont démontrés la présence de ces champignons sur les muqueuses vaginales de vaches saines (Benbelkacem, 2010 ; Ksouri, 2008).

3.2 Champignons exogènes

À l'état saprophytique, ces champignons se développent en dehors de l'animal et ne deviennent pathogènes que lorsque les conditions de l'organisme hôte sont favorables.

4 Espèces fongiques en cause

Les mammites d'origine fongique sont surtout dues à des levures mais aussi à des champignons filamenteux (Euzeby, 2008).

4.1 Champignons levuriformes :

Selon Euzeby, (2008), ces mammites fongiques sont surtout dues à *Candida* sp. (Particulièrement *Candida tropicalis*), à *Cryptococcus neoformans* et à *Trichosporon* sp.

4.1.1 Genre *Candida* sp.

À l'origine des mammites candidosiques. Ce genre comprend plus de 200 espèces. *Candida albicans* est l'espèce le plus souvent impliquée dans la maladie animale due à *Candida* sp. (Quinn et *al.*, 2002). Ces champignons sont présents partout dans la nature et comme commensales dans le tube digestif et le tractus urogénital des animaux et de l'homme. Cependant, l'espèce *Candida albicans* est devenue un parasite des animaux (endosaprobies), car moins souvent isolée de l'environnement par rapport aux autres espèces (Quinn et *al.*, 2002). Sur les milieux solides, les colonies sont humides, luisantes, d'aspect crémeux et à surface bombée, alors que dans les milieux liquides d'isolement, on observe la formation d'une membrane, des anneaux ou un simple dépôt. Les critères d'identification des espèces du genre *Candida* sont l'auxanographie et l'enzymologie.

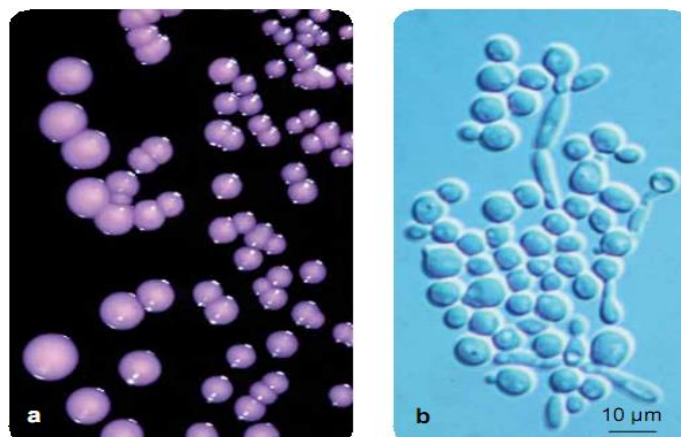


Figure 1: *Candida albicans* (a) aspect macroscopique des colonies (b) aspect microscopique des levures (Kidd et al., 2016).

Candida albicans et *Candida dubliniensis*, présentent la particularité de former des tubes germinatifs, tubes ressemblant à un mycélium mais sans cloisonnement entre la levure et le filament, quand on les place dans un milieu blastèse (dans du sérum pendant 2 à 3 heures à 35°C) (Kidd et al., 2016).

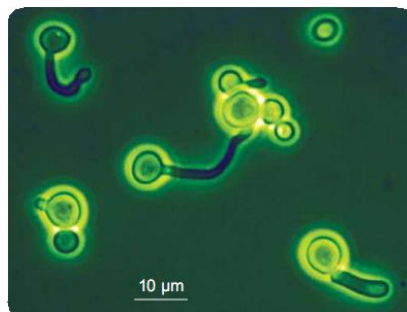


Figure 2: Tube germinatif de *Candida albicans* (Kidd et al., 2016).

La plupart des levures isolées à partir de lait de vaches souffrant de mammites mycosiques appartiennent au genre *Candida* sp. (Farensworth et Sorensen, 1972). De nombreux auteurs ont rapporté l'isolement de ces levures à partir de lait de vaches saines et du lait provenant de vaches souffrant de mammite (Segundo-Zaragoza et al., 2011 ; Spanamberg et al., 2008). Selon Quinn et al., (2002) et Dwight et Zee, (2002), ils sont aussi impliqués dans des cas d'avortement d'origine mycosique.

4.1.2 Genre *Cryptococcus* sp.

Bien que le genre *Cryptococcus* sp. renferme environ 37 espèces, seule *Cryptococcus neoformans* est à l'origine d'infections opportunistes (Quinn *et al.*, 2002).

Dans le cas des mammites fongiques, *Cryptococcus neoformans* est l'espèce la plus dangereuse et la plus pathogène (Spanamberg *et al.*, 2008). *Cryptococcus neoformans* se présente sous forme de cellules rondes ou ovalaires de 3.5 à 8.0 µm de diamètre, entourée d'une capsule. Isolé directement de l'animal infecté, le champignon présente une capsule mucopolysaccharidique épaisse qui peut être mise en évidence par la coloration à l'encre de chine (Quinn *et al.*, 2002).

Cryptococcus neoformans croit dans les milieux de culture usuels à la température ambiante. Les colonies apparaissent après 2 jours d'incubation ou même plusieurs semaines. Elles sont blanc jaunâtres à blanchâtres, mucoïdes et peuvent atteindre plusieurs centimètres de diamètre (Dwight et Zee, 2002). L'actidione inhibe la croissance de *Cryptococcus neoformans*.

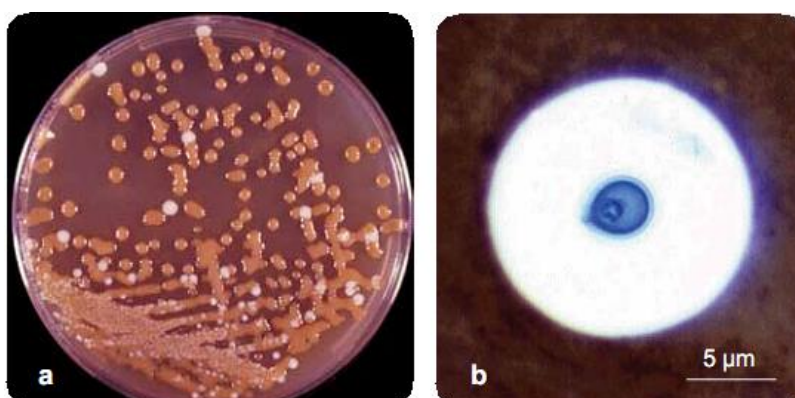


Figure 3: *Cryptococcus neoformans* (a) *Cryptococcus neoformans* (colonies brunes) et *Candida albicans* (colonies blanches), (b) Coloration à l'encre de Chine de *C. neoformans* entourée d'une capsule gélatineuse caractéristique (Kidd *et al.*, 2016).

Cryptococcus sp. hydrolyse l'urée (Dwight et Zee, 2002). Cette caractéristique biochimique peut être utilisée pour son identification (assimilation de l'urée, test de l'urée indole). *Cryptococcus neoformans* (et d'autres espèces appartenant à ce genre) peuvent utiliser la créatinine comme source d'azote (Dwight et Zee, 2002). Cette dernière caractéristique en plus de la présence d'une capsule épaisse confère à ces champignons une bonne résistance dans le milieu extérieur particulièrement dans les fientes de pigeons, qui représentent d'après Quinn

et al., (2002) la principale source de ces levures, en plus d'autres sources représentés principalement par un arbre d'Australie (*Eucalyptus* sp.).

4.1.3 Genre *Trichosporon* sp.

Très répandus dans la nature, ces champignons sont saprobiotiques du sol, bois et des fruits. Isolés à partir des manchons trayeurs (Ksouri, 2008), et des mains des trayeurs (Benbelkacem 2010).

L'infection mammaire due à *Trichosporon beigeli* peut être fatale et peut avoir des proportions épidémiques engendrant des pertes économiques graves (Gonzalez *et al.*, 2001). En effet, dans une étude réalisée en Algérie, Benbelkacem, (2010) a isolé *Trichosporon cutaneum*, *Trichosporon capitatum* et *Trichosporon beigeli* à partir d'échantillons de lait de vaches cliniquement saines. Euzeby (1967), a mis en cause les étables mal entretenues d'être à l'origine d'infections génitales et mammaires dues à ce genre de champignons levuriformes.

4.1.4 Autres genres levuriformes

Dans une étude réalisée en 2010 au niveau de la région de Tiaret dans le but d'évaluer l'effet de l'amélioration des conditions d'hygiène sur la nature des agents fongiques, nous avons isolé des espèces levuriformes appartenant à d'autres genres que ceux cités ci-dessus, à partir de quartiers des mamelles dont leur statut sanitaire n'a pas été déterminé. Ces espèces étaient comme suit : *Rhodotorula rubra*, *Rhodotorula glutinis* et *Saccharomyces cerevisiae* (Benbelkacem et Aissi, 2012). En effet, avant l'amélioration des conditions d'hygiène, *Rhodotorula rubra* était l'espèce la plus fréquemment isolée.

4.2 Champignons filamenteux

Les principaux genres incriminés dans les cas de mammites fongiques sont : *Deuteromycota arthrosporineae* (*Geotrichum* sp.) ; *mucorales* ; *aspergillales* ; *dématiacées* (Euzeby, 2008).

4.2.1 Genre *Mucor*

La mammite mucormycosique est due à diverses espèces de *Mucor*. Elle se caractérise par la formation d'agglomérats de nodules mammaires à parois épaisses, ulcérés et purulents, et une sécrétion lactée modifiée (Euzeby, 2008).

Les colonies à croissance rapide et extensive ont une structure laineuse. La couleur varie du gris au brun en surface. Le verso est incolore. La température optimale de croissance est de 25°C (Chabbasse et *al.*, 2002).



Figure 4: Colonie de *Mucor circinelloides* (Kidd et *al.*, 2016).

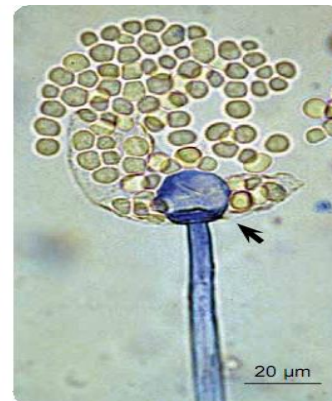


Figure 5 : Aspect microscopique de *Mucor* sp. (Kidd et *al.*, 2016).

D'après Chabbasse et *al.*, (2002), les mucorales se caractérisent par : des filaments larges peu ou pas septés, pas de stolons ni de rhizoïdes, des sporocystophores issus le plus souvent du thalle végétatif, ils se terminent par une columelle ovoïde sans apophyse et présentent souvent un rétrécissement sous la columelle, des sporocystes globuleux, des spores rondes à ellipsoïdales, lisses ou ornementées de spicules et des chlamydospores parfois présentes et abondantes.

En plus de leurs implications dans la pathologie mammaire, de nombreuses espèces appartenant à ce genre ont été décrites par Ali et Khan, (2006) comme agents responsables d'avortements mycosiques : *Mucor rhizopodiformis* ; *Mucor disperes*.

4.2.2 Genre *Aspergillus*

Dans le cas des affections aspergillaires, les facteurs propres à l'hôte sont souvent des facteurs déterminants de la maladie. Ces mycoses sont rencontrées chez les animaux immunodéprimés (Dwight et Zee, 2002). La plupart des espèces appartenant à ce genre sont connues par leur capacité à produire des mycotoxines dont nombre d'entre elles sont très toxiques.

Parmi les 900 espèces recensées, *Aspergillus fumigatus* est l'espèce le plus souvent incriminée dans les infections humaines et animales (Dwight et Zee, 2002). D'après ces mêmes auteurs, les mammites dues à *Aspergillus fumigatus* ont été reportées à des taux élevés, surtout en Europe. Le pouvoir pathogène de cette espèce est en partie dû à sa capacité de produire des métabolites cytotoxiques et immunodépresseurs. Bauer, (1989) a pu isoler la *Gliotoxine*, un métabolite toxique produit par *Aspergillus fumigatus* à partir du tissu mammaire. Schallibaum *et al.*, (1980) a isolé *Aspergillus nidulans* à partir de lait de vache atteinte de mammite clinique.

Ces champignons sont présents dans le sol, l'alimentation et secondairement dans l'air, l'eau et les objets exposés à ces sources. Ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires et les céréales. De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont présentes dans l'environnement humain, notamment dans la poussière et l'air (Morin, 1994).

Aspergillus sp. croît dans les milieux de culture usuels, même à des températures d'incubation très élevées (supérieur à 50°C) (Dwight et Zee, 2002). De ce fait, certaines espèces sont très résistantes dans le milieu extérieur.

Macroscopiquement, les *Aspergillus* forment des colonies souvent poudreuses ou granuleuses. La couleur des colonies permet une orientation rapide de l'identification des espèces : gris-vert pour *Aspergillus fumigatus*, vert-jaune pour *Aspergillus flavus* et les espèces du groupe *Aspergillus glaucus*, vert foncé à chamois pour *Aspergillus nidulans*, brun cannelle pour *Aspergillus terreus*, chamois clair, jaune et rose pour *Aspergillus versicolor*, jaune puis noir pour *Aspergillus niger* et blanche pour *Aspergillus candidus*. Le revers de la colonie est incolore ou jaune, mais il peut brunir ou rougir avec l'âge (Chermette et Bussieras, 1993).

La plupart des espèces ne croient pas en présence de cycloheximide (Actidione) dans le milieu de culture. Microscopiquement, les *Aspergillus* sont caractérisés par la présence de la «tête aspergillaire».

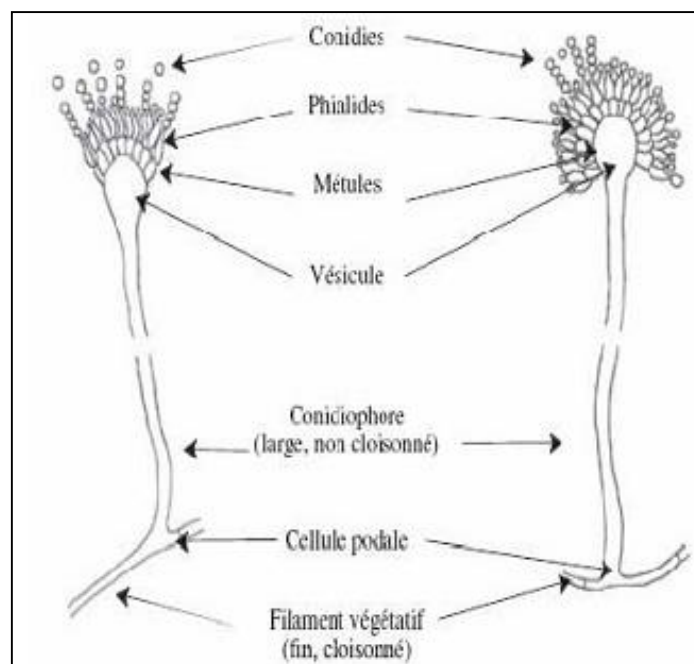


Figure 5: Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus* (Tubac, 2007).

4.2.3 Genre *Penicillium* sp.

Largement répandues dans le milieu extérieur. Il s'agit de contaminants fréquents des régions tempérées (Tabuc, 2007). Sur gélose Sabouraud sans cycloheximide, *Penicillium marneffe* par exemple produit à 25 °C, des colonies duveteuses de couleur jaune à brun-vert rougissant avec le temps, et présentant un revers rouge vif (Chabasse et *al.*, 2002). Du point de vue morphologique, les champignons du genre *Penicillium* sp. se distinguent par leur organisation en pinceau.

Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien individualisés (Tabuc, 2007).

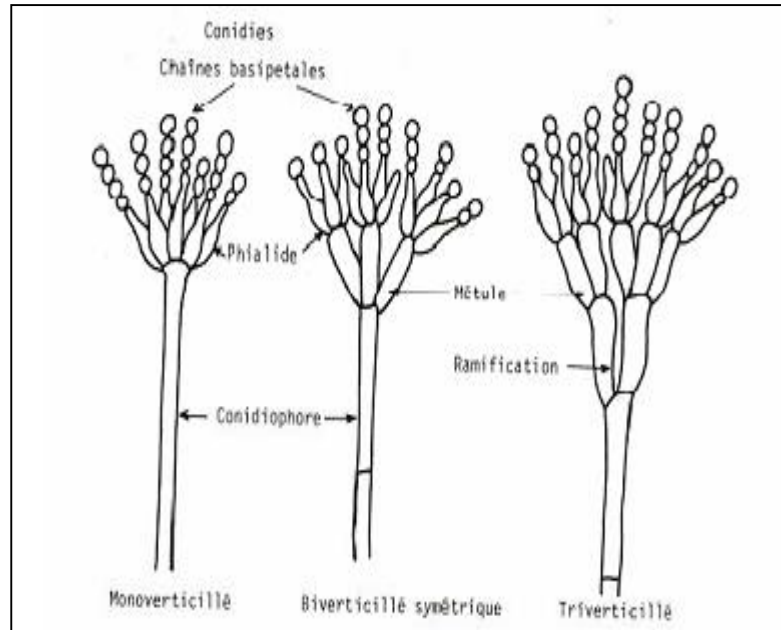


Figure 6: Caractères morphologiques du genre *Penicillium* sp.
(Tabuc, 2007).

4.2.4 Genre *Geotrichum* sp.

Les colonies de *Geotrichum candidum* sont jaunâtres, plates, humides avec une surface granuleuse. Microscopiquement, les mycéliums sont septés, fragmentés en rectangles (arthroconidies), visibles après coloration au bleu de lactophénol ou à la coloration de gram (Chahota *et al.*, 2001).

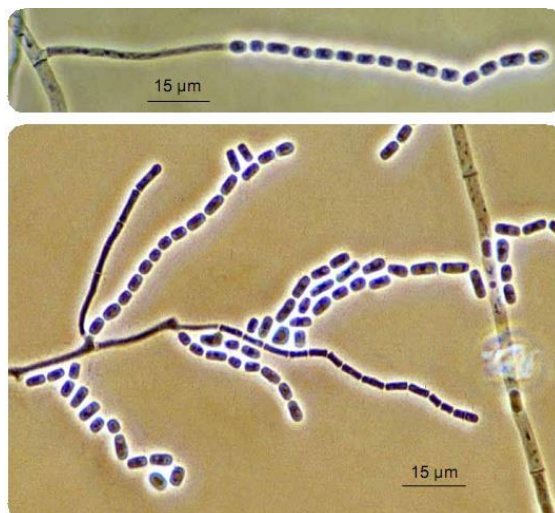


Figure 7: *Geotrichum candidum* avec des arthroconidies (Kidd et *al.*, 2016).

Largement répandu dans la nature comme le sol et le fourrage. Deux espèces appartenant à ce genre ont été isolé à partir de lait de vaches ne présentant aucun signe de mammite clinique : *Geotrichum candidum* et *Geotrichum capitatum* (Benbelkacem, 2010).

5 Pathogénie

5.1 Pénétration des germes dans la mamelle

Etant donné l'ubiquité des agents fongiques dans l'environnement des animaux, la voie de pénétration exogène à travers le canal du trayon est la plus probable. En effet, plusieurs auteurs ont qualifié cette voie comme étant la voie majeure à l'origine de l'infection mammaire. Selon Sharif et Muhammad, (2009), la période de traite ainsi que les heures suivant la traite constituent les périodes les plus favorables à la pénétration des germes car le sphincter du trayon relâché contribue à cette invasion, en cas de non-respect des règles d'hygiène et de la technique de traite. La voie hématogène est aussi probable. En effet, la coexistence de lésions mycosiques au niveau pulmonaire et au niveau de la mamelle a été observée chez les bovins, mais la relation entre ces deux infections n'a pas été déterminée (Perez et *al.*, 1998). Euzeby, (2008) qualifie les mammites d'origine fongique comme étant des mammites secondaires précédées surtout de métastases d'une localisation extra-mammaire, mais peuvent être primaires et résultent de la pénétration des parasites par le canal du trayon. Selon Kirk et Sischo, (2003), les vaches présentant des lésions à l'extrémité des trayons ont trois fois plus de risque de développer des mammites que ceux ne présentant aucune lésion.

5.2 Infection de la glande mammaire

La mamelle est constamment affrontée aux agents mycosiques, mais grâce aux mécanismes de défense immunitaire ces champignons sont rapidement neutralisés et éliminés de la mamelle. Cependant, dans certaines circonstances, l'agent mycosique peut se développer, se multiplier, se disséminer et même synthétiser des toxines à action locale et générale lui assurant la survie et l'envahissement de l'organisme, déterminant ainsi la maladie. En effet, il a été démontré que 2,2% des quartiers abritent des champignons pathogènes et ne présentent aucun signe clinique de mammite (Farensworth et Sorensen, 1972), et dans plusieurs études, des agents fongiques pathogènes ont été isolés à partir d'échantillon de lait prélevés de vaches saines. Cette découverte indique qu'il existe d'autres facteurs impliqués dans l'expression clinique de ces cas de mammite.

Il est intéressant de décrire les facteurs pouvant être à l'origine de la rupture de l'équilibre (*animal / champignon*). Ces facteurs peuvent être divisés en deux classes :

5.2.1 Facteurs liés à l'animal

Dans ce cas, le système immunitaire est le facteur principal pouvant jouer un rôle majeur dans le déterminisme de la maladie. Les mécanismes de défense immunitaire contre les infections mycosiques sont nombreux et impliquent les mécanismes immunitaires non spécifiques (l'immunité innée) ainsi que ceux de l'immunité spécifique (l'immunité acquise).

L'immunité non spécifique constitue la première barrière de défense de l'organisme et fait intervenir dans ce cas de nombreux processus : la peau et les muqueuses, le sphincter du trayon, la couche de kératine, les protéines du complément, les cellules phagocytaires... etc. A cause de la rigidité de leurs parois, relativement imperméables, la majorité des champignons peuvent résister à l'action lytique du complément (Quinn et *al.*, 2002).

Pour les mécanismes de défense spécifiques, l'immunité à médiation cellulaire est importante alors que l'immunité humorale a très peu ou pas d'intérêt dans l'immunité antimycosique. Cependant, durant la dernière décennie, il a été démontré que l'immunité humorale peut protéger contre les infections mycosiques si les anticorps spécifiques sont disponibles en nombre suffisant (Blonco et Garcia, 2008).

Tout facteur entraînant une dépression du système immunitaire peut favoriser l'apparition de la maladie mycosique. D'après Romani, (2004), le principal facteur prédisposant aux infections

dues à *Candida sp.* est le dysfonctionnement du système immunitaire à médiation cellulaire. Ce dysfonctionnement d'origine congénitale ou acquise implique une insuffisance quantitative ou qualitative des neutrophiles et des lymphocytes T.

5.2.2 Facteurs liés à l'agent mycosique

Le pouvoir pathogène d'un champignon est lié à son aptitude à déborder le système immunitaire et de provoquer la maladie. Cette aptitude dépend de plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques.

Selon Farensworth, (1977), la sévérité de l'infection dépend du nombre des microorganismes présents dans la mamelle et de l'espèce incriminée. Pour les facteurs intrinsèques, il faut prendre en considération le genre, l'espèce, la souche et la forme qui déterminent le degré de virulence d'un champignon. D'après Quinn et *al.*, (2002), la phagocytose peut s'avérer inefficace et certains champignons peuvent échapper aux cellules phagocytaires surtout si l'infection est massive. Cette résistance est rencontrée lors d'infection cryptococcique et est due à la présence d'une capsule rigide de nature mucopolysaccharidique empêchant la phagocytose. De même, la localisation intracellulaire de *Prototheca zopfii* rend difficile leur élimination. La voie d'inoculation et la dose représentent les facteurs extrinsèques.

5.2.3 Autres facteurs

La présence de bactéries dans le tissu mammaire peut influencer le développement des champignons. Ces bactéries présents en grand nombre entrent en compétition avec les agents fongiques et élaborent des métabolites dont certaines d'entre elles sont antagonistes aux champignons. Ce phénomène peut expliquer en partie l'incidence réduite des infections mammaires d'origine mycosique par rapport à celles d'origine bactérienne (Moretti et *al.*, 1998).

5.3 Elaboration des substances toxiques

Dès que l'équilibre animal-champignon se rompt, le champignon envahissant la mamelle se développe et synthétise des toxines à action locale et générale lui assurant la survie et l'envahissement de l'organisme.

5.3.1 Toxines à action locale

Les champignons élaborent des substances toxiques à action locale qui ont des propriétés protéolytiques et déterminent dans le tissu infecté des lésions nécrotiques. En plus, ils élaborent des toxines ayant une action dépressive sur le système immunitaire leur permettant d'exprimer leurs pouvoirs pathogènes. D'après Blonco et Garcia (2008), *Aspergillus sp.* élaborent des substances telles que l'élastase, qui facilite l'invasion des tissus non nécrosés et la pénétration dans la circulation sanguine. De même, Niyo et *al.*, (1988), ont découvert que chez le lapin, la toxine T-2 produite par *Aspergillus flavus* diminue la phagocytose des conidies par les macrophages alvéolaires et augmente la sévérité de l'infection aspergillaire.

5.3.2 Toxines à action générale

En plus de leurs effets locaux, certaines toxines peuvent avoir des effets graves sur l'organisme animal et contribuent pour la plupart des cas à l'aggravation de l'infection en inhibant les processus de défense immunitaire. D'après Whitlow et Hagler (non daté), les toxines peuvent avoir des effets néfastes sur la reproduction et peuvent être responsables de la diminution du taux de conception, de l'induction des mortalités embryonnaires, et perturbent même la manifestation des chaleurs par des vaches en gestation.

La toxine PR produite par *Penicillium* est responsable d'une toxicité aigüe chez les lapins et les chats en augmentant la perméabilité capillaire au niveau des poumons, du cœur, du foie et des reins (Chen et *al.*, 1982) ; de plus, cette toxine pourrait être responsable d'avortement et de rétention placentaire (Still et *al.*, 1972).

5.4 Dissémination de l'agent pathogène

Suite à l'adaptation du champignon au nouvel environnement et à la dépression des défenses immunitaires, la multiplication et la germination en mycélium contribue à l'invasion du tissu mammaire, la dissémination du champignon dans l'organisme animal et la colonisation d'autres organes. Il faut noter que le pouvoir de dissémination des champignons tient compte l'espèce en cause et du statut immunitaire de l'animal. La dissémination d'*Aspergillus sp.* à partir de la mamelle aux organes internes a été observée chez des ovins souffrant de mammite aspergillaire. Cette dissémination n'a pas été signalée chez tous les individus infectés (Perez et *al.*, 1998). Selon ces mêmes auteurs, la dissémination fait suite à une invasion vasculaire et se fait par voie hématogène.

5.5 Evolution de la mammite mycosique

Suivant le pouvoir pathogène du micro-organisme (les facteurs liés à l'agent mycosique), l'efficacité des réactions de défense de la glande (les facteurs liés à l'animal), et la présence ou l'absence d'une co-infection bactérienne, l'évolution se fait :

- Vers la guérison spontanée, lorsque la réponse cellulaire est efficace. La guérison spontanée est le scénario le plus probable pour les mammites mycosiques. Une guérison spontanée dans la majorité des cas est observée en 2 à 4 semaines (Crawshaw *et al.*, 2005). Dans certains cas (mammites colibacillaires, mycosiques...), seules des traites répétées (6 à 10 fois par jour) permettent d'obtenir une guérison. Ces traites s'effectuent à la main et sont parfois facilitées par l'administration d'ocytocine. L'application de pommades décongestionnantes ou antiphlogistiques sur la mamelle permettrait de diminuer l'inflammation locale et de résorber les indurations (Hanzen, 2009).
- Vers l'extension de l'inflammation et de l'infection lorsque le micro-organisme est très pathogène. On observe alors des manifestations cliniques de mammite. En effet, de nombreuses épidémies de cas de mammites mycosiques avec manifestation clinique ont été signalés (da Costa *et al.*, 2012 ; Spanamberg *et al.*, 2008).
- Vers la persistance de l'infection dans la glande mammaire, on parle de mammite subclinique : un équilibre s'installe entre l'infection et la réponse inflammatoire de la glande. Lorsque l'équilibre se rompt l'expression clinique reprend. Dans ce cas de mammite subclinique, la présence d'agents fongiques dans le tissu mammaire implique l'augmentation des cellules immunitaires dans la glande mammaire. Cependant, cette augmentation n'est pas de règle pour toutes les infections fongiques du tissu mammaire (Farensworth et Sorensen, 1972).

6 Epidémiologie des mammites fongiques

6.1 Epidémiologie descriptive

6.1.1 Population affectée

Vu l'ubiquité des agents fongiques dans l'environnement des animaux, toutes les vaches du troupeau peuvent être affectées. Aucune prédisposition de race n'a été relevée jusqu'à présent (Coube, 1997).

6.1.2 Répartition géographique et fréquence

La prévalence des mammites fongiques est estimée à 7% en Europe et aux USA. Cependant, dans les régions tropicales, elle peut être plus élevée (Aalbaek et *al*, 1994). Au cours de notre recherche bibliographique, on a constaté un plus grand nombre de travaux réalisés dans les régions tropicales comme le Brésil, que dans le reste du monde.

6.1.3 Aspect épidémiologique

Les infections mycosiques de la glande mammaire surviennent le plus souvent comme des cas sporadiques affectant un nombre réduit de vaches dans un troupeau, ou comme des flambés de cas affectant la majorité des animaux de l'élevage. Dans les deux situations, la sévérité de l'infection dépend du nombre des microorganismes présents dans la mamelle et de l'espèce incriminée (Farensworth, 1977). Il existe donc deux formes de mammite mycosique : *la forme sporadique* et *la forme épizootique*.

6.1.3.1 Forme sporadique

La plus souvent décrite, elle implique une proportion réduite du troupeau et est la plus souvent primaire, c'est-à-dire que ces mammites mycosiques sont spontanées dans le sens où elles ne sont précédées ni d'infections bactériennes, ni de traitement antibiotique (Fortier, 1990).

6.1.3.2 Forme épizootique

Elle implique une grande proportion du troupeau et est le plus souvent secondaire, c'est-à-dire que ces mammites mycosiques sont précédées d'infections bactériennes ou de traitement antibiotique (Fortier, 1990).

En effet, la mammite mycosique a aussi existé bien avant la découverte des antibiotiques (Pengov, 2002). Cependant, suite la découverte de ces agents thérapeutiques et à la banalisation de la médication antibiotique, une augmentation du nombre des cas de mammite mycosique a été reportée et est le plus souvent associée aux traitements préventifs ou curatifs des mammites bactériennes (Lagneau et *al.*, 1996).

L'infection mammaire due à *Trichosporon beigelii* peut être fatale et peut avoir des proportions épidémiques engendrant des pertes économiques graves (Gonzalez et *al.*, 2001). Les flambées

des cas de mammite mycosique apparaissent presque toujours après un traitement intramammaire réalisé par le personnel de l'élevage (Gonzalez et *al.*, 2001).

Les premières (mammites primitives) représentent selon certains auteurs (Bertslinger et *al.*, 1964), 30% des cas et les secondes (mammites secondaires) 70% et on retrouverait des champignons différents dans les formes primaires (*Candida krusei*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*) et dans les formes secondaires (*Trichosporon*, *Pichia*, *Saccharomyces*...) (Ksouri, 2008).

6.2 Épidémiologie analytique

6.2.1 Sources et matières virulentes

6.2.1.1 Sources primaires (les exosaprobies)

De sources diverses, les champignons sont très répandus dans le milieu extérieur et sont en contact direct ou indirect avec les animaux.

6.2.1.1.1 Litière, habitat et les matières fécales

Les germes de la litière sont généralement issus du tube digestif de l'animal. Par suite, l'introduction des germes dans le milieu est inéluctable et peut être aggravée en cas d'épisodes de diarrhées par exemple ou de troubles alimentaires. Une fois introduits, ces germes vont se développer et persister dans la litière sous l'influence de différents facteurs (Hanzen, 2009).

6.2.1.1.2 L'alimentation

Les moisissures sont des microorganismes ubiquistes qui peuvent se développer sur une grande variété de substrats. Les espèces de moisissures les plus fréquemment retrouvées dans les aliments appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Tabuc, 2007).

Les aliments composés peuvent être contaminés par les spores qui sont initialement présentes dans les céréales ou dans les autres ingrédients (oléagineux) qui entrent dans leur composition. Ils peuvent aussi être contaminés au cours du processus de fabrication ou pendant le stockage (Tabuc, 2007).

Dans le cadre d'une enquête épidémiologique réalisée dans la région de Guelma (Algérie), Ksouri (2008) a pu isoler les espèces suivantes à partir des drèches de brasserie : *Aspergillus*

fumigatus et *Aspergillus niger*. Cependant, les espèces isolées des drèches de brasserie sont différentes de celles isolées du lait de mammite. Donc le rôle de l'alimentation dans la contamination de la mamelle reste à prouver.

Ces moisissures produisent des mycotoxines entraînant une baisse du statut immunitaire de l'animal qui d'après Fournier (2006), peuvent augmenter la fréquence des maladies métaboliques, des mammites et des infections.

La production de mycotoxines peut être accélérée si les conditions de stockage sont favorables au développement des champignons. En effet, les conditions permettant la production des mycotoxines sont multiples, parfois difficiles à maîtriser en raison de leurs complexités, ce qui rends les aliments moisiss plus qu'une source d'infection mais aussi un facteur favorisant l'apparition des mammites d'une façon indirecte.

Donc, les champignons agissent par eux même en tant qu'agent infectieux contaminant directement la mamelle ou par l'intermédiaire des mycotoxines en entraînant une baisse du statut immunitaire de l'animal permettant le développement des agents mycosiques déjà présents au niveau de la mamelle.

6.2.1.1.3 Matériel de traite

Radostits et *al.*, (1994) considèrent que la machine à traire est le principal facteur responsable de l'augmentation de l'incidence des mammites subcliniques dans les élevages laitiers.

La machine de traite peut augmenter le risque d'apparition des mammites par divers mécanismes. Elle peut induire l'apparition de lésions (effet traumatisant), favoriser la dissémination de germes (rôle de vecteur) ou leur passage dans la mamelle (rôle infectant) (Hanzen, 2009).

Ksouri (2008) a isolé plusieurs espèces appartenant à quatre genres fongiques : *Candida sp.* , *Trichosporon sp.*, *Torulopsis sp.* et *Geotrichum sp.* , par écouvillonnage des gobelets trayeurs (chariot trayeur), avant et après la traite. Cependant, il a constaté qu'il existe une différence significative entre les espèces fongiques isolées au niveau des machines à traire avant la traite et les espèces isolées après la traite. Cette différence explique bien le rôle de la machine à traire dans la transmission des champignons d'une vache à l'autre au cours de la même traite ou entre les deux traites successives. En effet, il a été montré qu'une transmission des bactéries aux six vaches traitées après la vache infectée est possible (Bareille et Lemarchand, 2004).

6.2.1.1.4 Mains des trayeurs

Les mains des trayeurs peuvent être considérées comme étant un facteur de contamination et de transmission des agents fongiques surtout au sein des élevages ne respectant pas les règles d'hygiène au cours de la traite (nettoyage des mains avant et après la traite). Ksouri (2008) a isolé des champignons à partir des mains des trayeurs, avant la traite et après la traite, au niveau de deux exploitations.

6.2.1.1.5 Produits de traitement intra-mammaire

Selon Weight (1984), les levures doivent être introduites en grand nombre dans la mamelle pour être responsables de mammites mycosiques. Ainsi, ces produits de traitements, lorsqu'ils sont préparés extemporanément, peuvent être une source importante de champignons (Fortier, 1990).

L'administration intra-mammaire d'antibiotiques contaminés semble être un facteur prédisposant très important au développement des mammites mycosiques (Perez et *al.*, 1998).

Il faut signaler que le non-respect des règles d'asepsie et d'antisepsie lors du traitement par voie diathétique représente un risque de contamination importante même si les produits utilisés sont stériles.

6.2.1.1.6 Autres animaux

Les levures sont ubiquitaires et sont facilement isolées à partir du tractus gastro-intestinal de l'homme et de plusieurs espèces animales (Chengappa et *al.*, 1984). Ainsi dans une étude réalisée par cette même équipe, plusieurs espèces de levures ont été isolées à partir de différents sites anatomiques de plusieurs espèces animales (bovine, porcine, canine, féline, équine et aviaire). La plupart des isolats sont ceux provenant du tractus uro-génital et du tractus gastro-intestinal, avec respectivement 2.6 % et 12.2% de la totalité des isolats.

De plus, comme nous l'avons déjà mentionné précédemment, la principale source de *Cryptococcus neoformans* est représentée par la fiente de pigeons, voire d'autres oiseaux.

6.2.1.2 .Sources secondaires (endosaprobies)

6.2.1.2.1 Animal sain

Certains champignons sont des endosaprobies du tube digestif, du tractus uro-génital, des poumons et même de la mamelle ; et se trouvent dans le milieu extérieur par l'intermédiaire des produits de sécrétion et d'excrétion. Ces champignons peuvent être pathogènes pour l'animal et constituent une source de contamination pour la mamelle, comme dans le cas de *Prototheca zopfii*, cité par Lopes et *al.*, (2008), comme étant un commensal du tube digestif.

Ksouri (2008) a mis en évidence certaines espèces fongiques, isolées à partir de la région vaginale et du périnée des animaux cliniquement sains : *Aspergillus fumigatus*, *Candida krusei*, et *Tichosporon cutaneum*.

6.2.1.2.2 Animal malade

Le lait sera ici mis en cause comme véhicule principal d'agents fongiques pathogènes. Il intervient comme contaminant du milieu et aussi comme contaminant de la machine à traire (Fortier, 1990). D'après ce dernier, on peut classer ces animaux en (3) catégories : les animaux souffrant de mammite fongique ; les porteurs chroniques et les animaux souffrants de mammites mixtes.

6.2.2 Réceptivité

Les mycoses résultent dans la plupart des cas de l'accumulation d'un certain nombre de facteurs favorisants, autres prédisposant et enfin des facteurs de déclenchement. Selon Quinn et *al.*, (2002), les facteurs prédisposant aux mycoses sont les suivants :

- Immunodépression ;
- Défectuosités du système immunitaire ;
- Immaturité, vieillissement et malnutrition ;
- L'exposition massive aux agents mycosiques ;
- Traumatismes tissulaires ;
- Persistance des champignons à la surface de la peau ;
- Antibiothérapie prolongée ;
- Néoplasies.

Il est intéressant de classer ces facteurs en : facteurs intrinsèques et facteurs extrinsèques.

6.2.2.1 Facteurs intrinsèques

6.2.2.1.1 Race

Pour les mammites bactériennes, certaines races laitières comme la Holstein et la Frisonne pie noire semblent être plus sensibles que la race Jersey (Hanzen, 2000). Cette sensibilité peut être due au niveau de production élevé et non pas aux prédispositions raciales.

6.2.2.1.2 Age

Selon (Radostits et *al.*, 1994) la prévalence des quartiers infectés augmente avec l'âge des animaux, avec un pic à 7 ans.

6.2.2.1.3 Production laitière

Dans la plupart des cas, les infections mammaires apparaissent durant les deux premiers mois de lactation (Dwight et Zee, 2002). En effet, les animaux à fort potentiel de production sont les plus sensibles. Ce sont des animaux dont l'équilibre métabolique est fragile (Coube, 1997). Quant au tarissement, selon Ksouri (2008), l'incidence des mammites mycosiques durant cette période est inférieure à celle enregistrée durant la lactation : 83.33 % vs 16.67 %.

6.2.2.2 Facteurs extrinsèques

6.2.2.2.1 Facteurs climatiques

Selon Pengov (2002), la fréquence de la mammite mycosique dans les pays tropicaux peut être plus élevée qu'en Europe et aux USA.

Dans l'étude faite par Ksouri (2008), quatre cas sur six sont apparus en hivers, les deux restants en été et en automne. Cette constatation confirme bien l'influence des facteurs climatiques sur la prévalence des mammites fongiques. Cependant, il faut prendre en compte l'influence de la gestion de l'élevage qui diffère d'une saison à l'autre et d'un élevage à l'autre (pendant l'hiver, les animaux sont confinés à l'étable alors qu'en été, ils sont le plus souvent au pré).

6.2.2.2.2 Facteurs alimentaires

Selon Dwight et Zee, (2002), la supplémentation alimentaire en vitamine E et en sélénium semble avoir un effet préventif sur les infections mammaires aiguës. Une bonne alimentation, équilibrée d'un point de vue quantitatif et qualitatif est indispensable au maintien d'un bon statut immunitaire. Tout déséquilibre pourrait favoriser le développement des champignons.

6.2.2.2.3 Facteurs pathologiques

Le rôle favorisant de l'infection bactérienne dans le développement d'une mammite mycosique est controversé par Weight et Alhers (1982), pour qui l'infection bactérienne est responsable d'une pré-leucocytose favorisant l'élimination des champignons. Cependant, la succession « mammite bactérienne – traitement antibiotique -mammite mycosique » est fréquente et permet de supposer que les lésions permettent le développement des champignons malgré la pré-leucocytose (Fortier, 1990).

Toute infection générale peut favoriser le développement de la mammite mycosique en déstabilisant les moyens de défense de l'animal, créant ainsi un déséquilibre de l'homéostasie, favorable au développement des champignons.

6.2.2.2.4 Facteurs thérapeutiques

La mammite mycosique, décrite depuis 1901, a aussi existé bien avant la découverte des antibiotiques. Cependant, après la découverte de ces agents thérapeutiques et la banalisation de l'antibiothérapie, une augmentation de l'incidence de la mammite fongique a été reportée le plus souvent associée au traitement préventif ou curatif des mammites bactériennes (Pengov, 2002). Le mécanisme responsable de l'augmentation de l'incidence des mammites fongiques semble être très complexe (Perez *et al.*, 1998).

Il a été démontré que certains champignons tels que *Candida sp.* sont capables d'utiliser des antibiotiques tels que la pénicilline et la tétracycline comme source d'azote (Loftsguard et Lindquist, 1960). De même, d'après Krukowski *et al.*, (2000), l'administration de grandes doses d'antibiotique peut réduire le taux de la vitamine A, nécessaire à la régénération de l'épithélium mammaire, provoquant des lésions épithéliales, facilitant ainsi l'invasion des champignons. D'après Fortier (1990), l'antibiothérapie à large spectre provoque une dépression des défenses immunitaires.

Les corticoïdes, entraînant une immunodépression favorable au développement des champignons.

6.3 Epidémiologie synthétique

La mammite mycosique est une pathologie multifactorielle qui résulte de l'interaction de plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques.

D'après Farensworth et Sorensen, (1972), il a été démontré que 2.2% des quartiers abritent des champignons pathogènes et ne présentent aucun signe clinique de la mammite. Cette découverte indique qu'il existe d'autres facteurs impliqués dans l'expression clinique de ces cas de mammite.

La mamelle est en contact permanent avec les éléments fongiques par le biais de la litière, des mains des trayeurs, de la machine à traire... Ces facteurs sont dits : « facteurs de contamination ». La source de contamination du milieu sont multiples (alimentation, sécrétions vaginales, la matière fécale...). Ces sources de contamination sont qualifiées de « facteurs d'enrichissement ».

Le passage à l'état parasite chez l'animal fait en général suite à l'accumulation d'un certain nombre de facteurs qui sont à l'origine d'une dépression des défenses immunitaires de la mamelle et dont le facteur principal responsable de cette dépression est l'antibiothérapie massive et prolongée. Ces facteurs sont dits : « facteurs de déclenchements ».

7 Diagnostic des mammites fongiques

7.1 Diagnostic épidémio-clinique

Dans tous les cas des mammites et quelques soit l'agent microbien responsable de l'infection, il faut toujours procéder à des investigations épidémio-cliniques pour essayer de déterminer la forme et le cycle épidémiologique de l'agent fongique responsable, afin de contrôler les facteurs d'extension dans l'exploitation. L'infection mycosique de la glande mammaire peut évoluer d'une façon sporadique ou au contraire affectant la majorité des animaux. Cependant, la sévérité de l'infection dépend du nombre de microorganismes présents dans la glande mammaire et de l'espèce impliquée (Lagneau et *al.*, 1996). L'infection mycosique de la mamelle peut se présenter sous différentes formes :

- Formes graves ;

- Formes aiguës bénignes ;
- Infection latente et infra clinique ;
- Forme chronique.

Le diagnostic épidémiolo-clinique ne permet qu'une suspicion de l'infection mycosique de la glande mammaire ; pour cette raison, il est utile de rappeler les circonstances d'apparition et les éléments de suspicion d'une infection mammaire d'origine mycosique.

7.1.1 Circonstances d'apparition

Comme nous l'avons déjà mentionné dans l'étude épidémiologique de ce type de mammite, cette infection fait le plus souvent suite au traitement antibiotique préventif ou curatif par voie intra mammaire, c'est le « modèle iatrogène ». On a un nombre important d'animaux atteints à un moment donné et qui sont atteints de mammites cliniques aiguës, infra-cliniques ou chroniques. Dans la forme aiguë de la mammite mycosique, l'incubation mesurée par Radelli (1957) après inoculation intra-mammaire de *Cryptococcus neoformans* semble être constante : de 5 à 12 jours chez la vache (Fortier, 1990). Selon Hanzen (2009), l'infection est aisée et apparaît en moyenne 4 à 10 jours après la contamination. Ce modèle épidémiologique est peu rencontré en phase de tarissement car selon Thompson et *al.*, (1978), la mamelle est peu sensible à l'infection (taux de lactoferrine plus important qu'au vêlage par exemple) elle est peu lésée et offre des défenses mécaniques plus fiables.

Le « modèle d'exposition » constitue le deuxième modèle épidémiologique de la mammite mycosique. Dans ce cas-là, la mammite mycosique fait suite à l'intervention de facteurs mécaniques sur une mamelle saine (blessure du trayon, problème de traite...), ou sur une mamelle atteinte de mammite mycosique latente.

Dans le « modèle associatif », plusieurs facteurs d'exposition sont réunis, en plus du milieu enrichi par les agents pathogènes (litière contaminée, aliments moisissus riches en spores et en mycotoxines...).

7.1.2 Éléments de suspicion

Les infections à champignons sont à suspecter lorsque les traitements intra-mammaires apparaissent inopérants ou ont été effectués sans avoir respecté les mesures d'hygiène habituelles (Hanzen, 2009).

Aucun caractère spécifique ne peut différencier les mammites mycosiques des mammites bactériennes (Pounden, 1952), c'est pourquoi le diagnostic clinique des mammites mycosiques est très difficile à réaliser. Les signes cliniques présentés par l'animal atteint d'une mammite mycosique ne sont pas spécifiques (Perez et *al.*, 1998).

Dans le cas des infections dues à *Candida sp.*, les lésions sont habituellement limitées à la citerne et les signes locaux peu marqués. L'affection est généralement bénigne et régresse en l'espace d'une semaine. L'infection par un *Aspergillus sp.* se traduit par l'apparition de multiples abcès dans le tissu mammaire. Ceux-ci s'entourent de tissu de granulation (Hanzen, 2009). Cependant, les signes rapportés par d'autres auteurs sont très diversifiés et non spécifiques, ce qui rend le diagnostic clinique insuffisant dans le cas des mammites mycosiques.

Il faut toujours se référer aux circonstances d'apparition, qui en plus des symptômes cliniques, peuvent orienter le diagnostic clinique.

7.2 Diagnostic expérimental

7.2.1 Diagnostic anatomopathologique

L'inflammation mycosique est le plus souvent caractérisée par une réaction granulomateuse subaiguë ou chronique à laquelle s'associent suppuration et fibrose (Boiron, non daté).

7.2.1.1 Lésions macroscopiques

Les lésions associées aux infections mycosiques sont généralement limitées à la glande mammaire mais la propagation aux ganglions lymphatiques est possible (Perez et *al.*, 1998).

7.2.1.1.1 Mammite aspergillaire

La mamelle présente ici un aspect « granuleux », qui révèle des grosseurs de la taille de grains de maïs assez dures, parfois entourés de pétéchies. Perez et *al.*, (1998) ont étudié les lésions aspergillaires chez l'espèce ovine et ont pu mettre en évidence des nodules de 0.3 à 1 cm de diamètre disséminés dans le parenchyme mammaire. Quelques nodules contiennent un matériel nécrotique de couleur gris-jaunâtre comme du caséum. A la coupe, les ganglions lymphatiques supramammaires sont congestionnés, présentant de multiples petites taches pâles (Perez et *al.*, 1998). L'architecture de la glande mammaire est perdue et est remplacée par de multiples foyers nécrotiques de tailles variables (Perez et *al.*, 1998).

7.2.1.1.2 Mammite cryptococcique

Après inoculation expérimentale de *Cryptococcus neoformans*, Singh et *al.*, (1994), ont observé les lésions suivantes : 5 jours après l'inoculation, les quartiers infectés sont plus tuméfiés que les quartiers « témoins ou sains ». A la coupe, le tissu atteint est de coloration blanc-jaunâtre, avec réduction de la taille de la mamelle et formation de petits nodules renfermant de la caséine blanchâtre. L'évolution de la mammite cryptococcique est le plus souvent vers la chronicité caractérisée par la fibrose du parenchyme mammaire.

7.2.1.2 Lésions microscopiques

L'étude histologique des lésions présente un double avantage, d'une part elle permet de mettre en évidence les lésions du tissu mammaire et d'autre part l'identification des éléments fongiques.

7.2.2 Diagnostic mycologique

L'isolement et l'identification du champignon constituent les moyens de diagnostic les plus fiables dans le cas des mammites mycosiques.

Un champignon se détermine par l'aspect macroscopique des colonies, par ses formes microscopiques et par ses caractères physiologiques (Segretain et *al.*, 1974).

7.2.2.1 Échantillonnage

Comme pour tous les prélèvements, il faut toujours respecter les mesures d'asepsie et d'antisepsie.

7.2.2.2 Examen direct

Cet examen permet de mettre en évidence les éléments fongiques : filaments, mycéliums, levures. Il n'est positif que lorsque la teneur en ces éléments est massive.

7.2.2.3 Technique

7.2.2.3.1 Centrifugation

Elle permet de concentrer les éléments fongiques. 5 ml de lait est centrifugé à 400 tour/mn pendant 5 minutes (Lagneau et *al.*, 1996). Les éléments fongiques sont recherchés dans le culot.

7.2.2.3.2 Coloration et éclaircissement

Non indispensables, mais permet de visualiser les éléments fongiques au sein d'un magma de cellules épithéliales desquamées et de polynucléaires. Les différents colorants utilisés sont :

- La coloration de Gram
- L'encre de chine, lors de l'infection cryptococcique, permet la mise en évidence de la capsule caractéristique.
- Le May-Grünwald-Giemsa (M.G.G.)
- Le bleu Cotton
- Le bleu de lactophénol
- Le bleu de méthylène
- L'acide périodique de Schiff...

Selon Cysewski et Pier (1968), la dilution doit être à 30%. Mais l'éclaircissement n'est pas indispensable.

7.2.2.3.3 Observations et résultats

Pour chaque lame, une observation à faible grossissement (x100 et x200) est réalisée afin d'identifier les régions de la lame qui contiennent du matériel fongique. L'analyse à x400- x600 de la lame se concentre sur la ou les régions qui ont été identifiées comme ayant du matériel présent. Si aucune région ne peut être identifiée, la lame entière est balayée pour l'analyse (Marchand et *al.*, 2007). Pour les résultats, on doit être très attentifs à leur interprétation. Selon Quinn et *al.*, (2002), un animal porteur d'un champignon peut ne pas excréter les éléments mycosiques ou bien les excréter d'une façon intermittente, ce qui affecte la sensibilité du test. Dans la plupart des cas, on n'observe jamais la forme parfaite du champignon mais l'examen direct permet de distinguer les 3 grandes classes d'éléments fongiques (De Fonesca et Losson, 1980).

- Levures : éléments ronds et bourgeonnants parfois accompagnés de mycélium.
- Levures se prolongeant par des filaments fins (2 μ m de diamètre), à paroi non parallèles avec des constriction : pseudofilaments de *Candida sp.*
- Filaments fins (2-3 μ m) à parois parallèles, à cloisons perpendiculaires : vraie filamentation : *Trichosporon sp.*

- Filaments épais (3-4 μm) avec présence de spores (8 x 4 μm) plus ou moins rectangulaires *Geotrichum sp.*
- Filaments épais (4-5 μm) avec des divisions dichotomiques et des ramifications à angle aigu champignons de la classe des Hyphomycètes (*Aspergillus sp.*) (Koenig, 1995).

7.2.2.3.4 Culture

L'isolement en culture permet l'identification de la plupart des champignons pathogènes. La majorité de ces champignons ne sont pas exigeants et peuvent croître dans les milieux de culture usuels, destinés aux bactéries. Cependant, la vitesse de croissance dans ces milieux peut être lente et le développement des spores et des autres structures permettant l'identification des champignons est faible (Dismukes et *al.*, 2003).

Il existe (2) types de colonies fongiques (Segretain et *al.*, 1974) : Les colonies de levures ressemblant aux colonies bactériennes, elles ont une consistance crémeuse. Leur croissance est rapide. Elles se repiquent comme les bactéries en stries ou par points. Les colonies filamenteuses à croissance centrifuge se présentent soit comme des moisissures avec filaments aériens enchevêtrés plus au moins longs, soit sous forme d'une croûte glabre ou recouverte d'un duvet de filaments. Pour la culture des champignons, il existe des milieux de culture usuels et d'autres spécifiques.

Milieux de culture classiques ou usuels : Selon Timoney et *al.*, (1988), la croissance des champignons à 37°C est considérée comme une preuve certaine de l'implication de l'agent mycosique dans la pathologie mammaire.

La durée d'incubation varie selon le genre, mais elle est de 2 à 4 jours. Pour les levures, elle est de 2 jours, pour les moisissures, 4 jours.

Milieux solides : Il existe plusieurs milieux solides permettant la croissance des champignons. Cependant, ces milieux permettent aussi la croissance des bactéries donc, ils sont peu ou pas spécifiques.

- Gélose glucosée,
- Gélose maltose,
- Gélose à l'éosine et au bleu de méthylène,
- Gélose au sang,

Milieu de Sabouraud : c'est le milieu universel en mycologie, cité dans la plupart des publications. Il est composé de : glucose (2 g), peptone (1 g), agar-agar (2 g) pour 100 ml d'eau.

Milieus liquides : Plusieurs milieux liquides peuvent être utilisés :

- Milieu de Sabouraud liquide sans agar-agar.
- Eau peptonnée.
- Bouillon au thioglycolate.
- Liquide glucosé.

Milieus de culture spécifiques

- **Milieu de Sabouraud glucosé à 2% (Sabouraud's dextrose agar)** : Permet la croissance rapide des champignons, mais aussi les bactéries.
- **Milieu de Sabouraud additionné d'antibiotiques** : Des antibiotiques cités par Dismukes et *al.*, (2003) comme la gentamycine, la vancomycine et autres antibiotiques sont utilisés pour leurs pouvoirs inhibiteurs meilleurs vu le développement d'une antibiorésistance contre les autres antibiotiques comme le chloramphénicol.

7.2.2.3.5 Identification

La culture du champignon étant obtenue, l'étude des caractères macroscopiques, microscopiques et physiologiques des champignons sur les milieux convenables, permettra d'en déterminer le genre et l'espèce (Boiron, non daté).

7.2.3 Diagnostic biochimique

Permet l'identification de l'espèce mycosique, notamment dans le cas des levures. Le diagnostic biochimique est basé sur le pouvoir d'assimilation et de fermentation des carbohydrates, ainsi que l'assimilation du nitrate et de l'urée.

La galerie API 20C AUX est considéré comme le test biochimique le plus fiable pour l'identification des espèces levuriformes. Ce test est considéré comme un test de référence parmi les tests phénotypiques et permet de différencier *Candida albicans* de *Candida dubliniensis*.

7.2.4 Diagnostic sérologique

La mise en évidence des anticorps dirigés contre l'espèce du champignon impliquée dans la pathologie constitue un moyen de diagnostic efficace dans le cas des mammites mycosiques. Les résultats obtenus pourraient être utiles pour un diagnostic précoce et ne nécessitent qu'un simple prélèvement sanguin (Garcia et *al.*, 2001). Cependant, l'interprétation des résultats peut être problématique pour les raisons suivantes : (Blonco et Garcia, 2000).

Quelques champignons, comme *Aspergillus sp.* sont ubiquitaires et sont en contact permanent avec l'homme et l'animal, ce qui suppose que la plupart des individus même en bonne santé ont un certain taux de ces anticorps, ce qui peut nous conduire à des erreurs d'interprétation. Une dilution du sérum sera nécessaire pour différencier les animaux infectés des animaux non infectés.

Il existe de nombreuses réactions de croisement entre les différents genres. Il sera difficile de faire un diagnostic précis. Selon (Dismukes et *al.*, 2003), les résultats de ces tests sérologiques sont relatifs et constituent un appui au diagnostic mycologique. De plus, les tests de détection des anticorps ne sont pas utiles chez les sujets souffrant d'immunodépression, car ils sont incapables de former des anticorps détectables par la réaction immunologique. (Dismukes et *al.*, 2003).

D'autres tests sérologiques permettent la détection des antigènes spécifiques. Cependant l'interprétation des résultats doit prendre en considération plusieurs facteurs importants, cités par Dismukes et *al.*, (2003) :

- Le test utilisé doit avoir une sensibilité élevée pour pouvoir détecter des quantités minimales des antigènes.
- Selon Jones, (1980), les antigènes sont rapidement neutralisés d'où l'intérêt de faire plusieurs prélèvements sanguins.
- Les antigènes se lient aux IgG, même chez les sujets immunodéprimés, donc d'autres étapes doivent être faites pour la dissociation de ces complexes avant que l'antigène puisse être détecté (Reiss et *al.*, 1982).

Il existe plusieurs techniques pour le diagnostic sérologique des infections mycosiques (ELISA ; Fixation du complément (FC) ; Hemagglutination indirecte ; IDPT (immunodiffusion tube precipitin test)), mais les résultats sont inconstants à cause de leur sensibilité variables selon plusieurs facteurs.

7.2.5 Diagnostic moléculaire

Une détection de l'ADN aspergillaire dans le sérum par une PCR nichée, l'utilisation de la PCR dans ces cas est prometteuse selon Garcia *et al.*, (2004). Les techniques reposant sur la réaction de polymérase en chaîne (PCR) sont les plus prometteuses, mais restent encore, à ce jour, peu concurrentielles par rapports aux méthodes biochimiques (Boiron, non daté).

8 Traitement des mammites fongiques

Le traitement des infections mammaires constitue une problématique majeure dans tous les élevages laitiers. Face à un cas de mammite mycosique, la position du praticien est toujours délicate car selon Timoney *et al.*, (1988) il n'existe pas de traitement spécifique aux mammites mycosiques.

Le traitement de la mammite mycosique doit prendre en considération l'espèce en cause ainsi que l'aspect épidémiologique de l'agent mycosique.

8.1 Traitement non-spécifique

8.1.1 Traitement sanitaire

La plupart des antibiotiques sont inefficaces contre les champignons et favorisent parfois leur croissance en déséquilibrant le rapport bactéries / champignons dans la mamelle et en inhibant les mécanismes de défense immunitaire de la mamelle. Donc, l'arrêt de l'antibionthérapie est souvent recommandé en cas d'infection mycosique.

Dans certains cas (mammites colibacillaires, mycosiques...), seules des traites répétées (6 à 10 fois par jour) permettent d'obtenir la guérison. Ces traites s'effectuent à la main et sont parfois facilitées par l'administration d'ocytocine. L'application de pommades décongestionnantes ou antiphlogistiques sur la mamelle permettrait de diminuer l'inflammation locale et de résorber les indurations (Hanzen, 2009).

L'auto-guérison sans traitement anti-infectieux est possible pour autant que la fréquence des traites soit augmentée (Hanzen, 2009).

La traite fréquente constitue une démarche logique pour traiter une mammite. Son rôle est de renouveler les leucocytes présents dans la glande mammaire. En effet, après quelques heures dans le lait, les polynucléaires neutrophiles et les macrophages perdent toute activité

phagocytaire suite à l'ingestion de protéines et de matière grasse. La traite permet d'éliminer ces leucocytes et de les remplacer par une population nouvelle et donc beaucoup plus efficace pour lutter contre l'infection (Hanzen, 2007).

8.1.2 Traitement médical

8.1.2.1 Antiseptiques et les antibiotiques

D'après (Dwight et Zee, 2002), l'utilisation de préparations à base d'iode peut être efficace dans le traitement des infections mammaires d'origine mycosique. Les champignons sont habituellement résistants aux antibiotiques mais sensibles aux dérivés iodés (Hanzen, 2009).

L'iode est utilisé en perfusion intraveineuse lente. Guilhaon et *al.*, (1961), ont utilisé l'iodure de sodium dans un cas de mammite à *Candida pseudotropicalis* en injectant 40 g dans 250 ml de sérum glucosé en intraveineuse et une application locale de pommade à la Mycostatine (Nystatine), 1 tube par jour pendant 4 jours. La guérison et le retour à la lactation normale sont obtenus en 8 jours (Fortier, 1990).

L'iode organique *per os* peut aussi être utilisé. Chez la femme, l'utilisation du violet de gentiane à la concentration de 1% est préconisée en cas d'affection mammaire par *Candida sp.* Quelques antiseptiques semblent être actifs, citons par exemple, l'acide undécylénique, les chlorophénols, les esters de l'acide-p-oxybenzoïque, les diamidines aromatiques (propamidines, stilbamidine), les composés à base de thio-semi-carbazone et surtout l'éthyl-mercurithiosalicylate de sodium (Benito-Trujillo, 1955).

L'utilisation des antibiotiques pour le traitement des mammites mycosiques a été rapportée par plusieurs études :

Pouden et *al.*, (1952), ont testé la sensibilité de *Cryptococcus neoformans* à différents antibiotiques (Pénicilline, Streptomycine, Dihydrostreptomycine, Bacitracine, Terramycine Sulfonilamide, Sulfadiazine) et aux Sulfamides, elle est presque toujours nulle. Farensworth et Sorensen, (1975) ont testé l'effet d'un traitement à base de Pénicilline, dihydrostreptomycine et le prédnisolone sur la croissance des levures *Candida krusei*. Les résultats étaient similaires pour les quartiers traités et les quartiers non traités.

Cependant, il est bien connu que l'utilisation des antibiotiques constitue un facteur de risque, permettant le déclenchement de la mammite clinique et l'expression clinique de cette pathologie.

8.1.2.2 Traitements par des adjuvants

Certains praticiens préconisent le recours à la traite fréquente combinée à l'injection d'anti-inflammatoire non stéroïdien pendant 2 à 3 jours. L'application locale d'un onguent à base de salicylate de méthyl, menthol ou eucalyptol est également conseillée. Une amélioration peut être observée rapidement ou prendre 15 jours (Hanzen, 2009).

8.2 Traitement spécifique (les agents antifongiques)

Selon Timoney *et al.*, (1988), il n'existe pas de spécialités pharmaceutiques à base d'agents antifongiques destinées au traitement des mammites mycosiques. Nous allons nous limiter à la description des agents antifongiques cités dans les différentes publications en rapport avec le traitement des mammites mycosiques.

Selon Timoney *et al.*, (1988), la plupart des champignons impliqués dans la pathologie mammaire sont sensibles à l'Amphotérecine B, la 5-Fluorocytosine, Kétoconazole, Miconazole, Natamycine et Nystatine.

L'injection intra-mammaire de 100-200 mg/quartier/jour de 1% de clotrimazole sous forme de solution ou de crème donne de bons résultats lors du traitement de la mammite mycosique (Giguere *et al.*, 2006). Selon ces derniers, seulement 1/5 des levures isolées à partir de lait de vaches étaient résistantes à la Nystatine.

D'après Radostits *et al.*, (1994), l'administration de 100 mg/l de Miconazole par voie galactophore supplémentée de 400 mg par voie intraveineuse donne de bons résultats. De même, methopyridazine par voie parentérale est efficace pour le traitement des mammites dues à *Candida sp.* *Candida* s'est révélé sensible au clotrimazole, à la nystatine, à la polymyxine B, au miconazole (Hanzen, 2009).

Cependant la sensibilité *in vitro* ne garantit pas l'efficacité *in vivo* du traitement antifongique contre les infections dues aux agents mycosiques.

8.2.1 Toxicité des agents antifongiques

Les agents antifongiques sont généralement toxiques pour la glande mammaire et peuvent causer autant ou plus de dommages que l'infection mycosique elle-même (Timoney *et al.*, 1988),

Selon Weight (1991), la nystatine et le Clotrimazole sont toxiques pour le tissu mammaire en cas de surdosage et il a décrit aussi des cas d'agalactie complète quelques jours après traitement à la Nystatine. Cependant, il faut signaler que cette toxicité est due en partie au surdosage, car une concentration de 5000 UI/ml de Nystatine n'est pas toxique alors qu'une concentration de 50 000 UI/ml entraîne le tarissement par irritation du quartier.

8.2.2 Résistance aux agents antifongiques

Avec l'augmentation de la prévalence des mammites mycosiques, une augmentation de la résistance aux agents antifongiques a été reportée (Sanchez *et al.*, 1996). La résistance aux agents antifongiques est divisée en 2 formes (Lassa et Malinowski, 2007) :

La résistance primaire ou innée, sans thérapeutique antifongique préalable.

La résistance secondaire ou acquise, apparaît suite à une thérapeutique antifongique.

9 Traitement alternatif des mammites par les huiles essentielles

Face au manque de traitements disponibles pour le traitement des mammites mycosiques et face à l'augmentation du taux de l'échec thérapeutique des mammites bactériennes par les traitements conventionnels, le recours aux huiles essentielles pourrait constituer un alternatif aux protocoles thérapeutiques actuels. Cependant, de tels médicaments prêts à l'emploi sont très peu nombreux (Kammerer et Pinault, 2001) et les données expérimentales sur l'utilisation vétérinaire de l'aromathérapie sont rares (Lefevre *et al.*, 2008).

En médecine humaine, les informations sont plus nombreuses où les huiles essentielles sont désormais utilisées et reconnues dans le traitement de diverses maladies infectieuses (Goncalves *et al.*, 2008), mais ces résultats ne nous sont guère utiles dans le cas des mammites vu les particularités des cas de mammites. De plus, l'usage de telles substances en thérapeutique vétérinaire implique non seulement que le produit soit efficace, mais aussi qu'il

ne soit pas source de résidus potentiellement dangereux pour la santé du consommateur (Lefevre et *al.*, 2008).

9.1. Définition des huiles essentielles

Une huile essentielle ou « essence végétale » est l'essence volatile extraite de la plante par distillation. Il s'agit d'une substance complexe qui contient des molécules aromatiques dont l'action bénéfique sur la santé est étudiée et mise en pratique par l'aromathérapie. Les huiles essentielles combinent des molécules très variées (en moyenne une centaine de molécules différentes pour une seule essence : terpènes, cétones, alcools, esters, aldéhydes...) (Julia, 2017).

Selon AFNOR ISO 9235, une huile essentielle se définit comme suit : « Produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche ».

9.2. Aromathérapie

L'aromathérapie est une médecine bien spécifique, utilisant des matières premières très concentrées, les huiles essentielles et les essences. Elles sont composées de substances odorantes et volatiles contenues dans de nombreux organes de la plante aromatique. Les essences sont obtenues directement par expression mécanique à froid, alors que les huiles essentielles le sont par distillation à la vapeur d'eau (Millet, 2010).

Les huiles essentielles que l'on peut utiliser pour traitement des mammites sont celles qui sont bien tolérées et qui ont une action contre les germes fréquemment impliqués dans cette pathologie (*streptocoques*, *staphylocoques* et *E. coli*) (Jeune, 2011).

9.3. Galénique des préparations à base d'HE

La galénique correspond aux techniques pharmaceutiques de fabrication et de préparation des médicaments.

Etant donné le caractère lipophile des huiles essentielles, l'utilisation des matières grasses comme excipient dans la préparation des solutions à administrer est à privilégier. Le recours à l'utilisation d'émulsifiants afin d'assurer la stabilité des huiles essentielles peut être très utile en phytothérapie et en aromathérapie. L'eau ne convient en aucun cas car les huiles essentielles n'y sont pas miscibles (Labre, 2012).

D'une façon générale, deux possibilités s'offrent à nous pour l'administration des huiles essentielles lors du traitement des mammites (Bourachot, 2017).

La voie diathétique est possible mais cette voie est problématique : la stérilité de la préparation, ainsi que l'irritation induite par l'injection des huiles essentielles directement dans la mamelle sont les principales contraintes liées à cette voie d'administration des huiles essentielles lors du traitement des mammites (Bourachot, 2017).

La voie transcutanée par massage du quartier atteint avec les huiles essentielles reste donc la voie d'administration à privilégier (Bourachot, 2017). Après un passage mécanique par diffusion passive à travers le tissu cutané, les huiles essentielles rejoignent la circulation sanguine (capillaires, veines) au niveau du derme et de l'hypoderme. Elles se diffusent ensuite dans tout l'organisme. L'action est locale et générale (systémique). Leur liposolubilité favorise un passage transcutané rapide et une bonne résorption. La prudence s'impose pour les huiles essentielles dermocaustiques et très irritantes. Les essences ne sont pas recommandées en emploi par voie cutanée, car elles sont irritantes et photosensibilisantes (Millet, 2010).

Pour la voie diathétique, l'incorporation des huiles essentielles dans une solution huileuse peut aller de 1 à 50 % d'une ou de plusieurs huiles essentielles dans une huile végétale grasse (olive, amande douce, noisette, sésame, carthame, soja, tournesol, germe de blé ...) vierge, de première pression à froid. Cependant, selon Jeune, (2017), la concentration en huiles essentielles ne devrait pas dépasser les 15% de la préparation finale lors du traitement intramammaire, cette concentration est en général bien supportée pour des huiles peu irritantes. Les huiles végétales de tournesol ou d'arachide peuvent être utilisées comme excipients intramammaires, on leur préférera cependant des gels tensioactifs.

Sur la peau, la dilution est de 5% maximum pour les huiles essentielles phénoliques en massage locaux (Franchomme, 2001). Le traitement topique par massage se réalise par incorporation en associant au minimum trois huiles essentielles : une huile à phénol avec une huile à alcool et une huile à composés anti-inflammatoires (Jeune, 2017).

En fin, l'application en pour-on sur l'échine de l'huile essentielle a fait l'objet d'une évaluation. Pour ce mode d'utilisation, l'huile essentielle pure est appliquée directement sur l'échine à raison de 10 ou de 20 gouttes par application, matin et soir pendant 7 jours. Le taux de guérison est très satisfaisant : sur 6 essais, 6 guérisons, mais une rechute d'une vache déjà "récidiviste" (Boutin, 2009).

9.4. Essai de terrain

Dans une étude menée par Lefevre et *al.*, (2001), les essais réalisés sur le terrain ont permis le traitement de 100 mammites cliniques par injection intramammaire de 10 ml de préparation à base d'huiles essentielles. Une formulation à base d'huile de *Thymus satureoides*, *Rosmarinus verbenone* et *Laurus nobilis* (1,5% chacun dans de l'huile de tournesol) a été testée sur 55 cas de mammites. Les 45 autres ont été traitées par les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et de *Rosmarinus verbenone* seulement (6% chacun, en solution huileuse ou en suspension aqueuse). Le taux de guérison, comparable quel que soit le médicament testé, était de l'ordre de 40 % des cas seulement.

En 2012, une thèse vétérinaire a présenté les résultats d'un essai de traitement transcutané des mammites à l'aide d'une préparation à base de l'huile essentielle d'Eucalyptus citronné, de Menthe poivrée et de thym satureioïdes. Chacune des huiles essentielles a été incorporée à un volume de 2,5 ml dans 50 grammes d'excipient, le carbopol® 2%. La guérison bactériologique était définie par l'absence à J21 de l'agent pathogène isolé à J0. Les taux de guérison bactériologique tous germes confondus (*S. aureus*, *SCN*, *Str. uberis*, *C. bovis*, *E. coli* et *Klebsiella* spp. *principalement*) étaient de 30,2% pour les mammites subcliniques et de 37,2% pour les mammites cliniques. Il est à noter que ces taux sont proches de ceux d'une guérison spontanée. Quant au taux de guérison clinique tous cas confondus, ils ont atteint 87,2% à J5 (Harlet, 2012).

Les résultats sont décevants quant à l'utilisation d'HE par voie intramammaire. Le massage aromatique du quartier atteint est une alternative intéressante et à approfondir. Cliniquement, le taux de guérison est satisfaisant. Des études complémentaires sur les taux de guérison bactériologique et cellulaire sont nécessaires à la validation de ce type de traitement. Un nombre suffisamment conséquent de données doit être récolté. De plus, la question des résidus est souvent peu abordée et aucune quantification n'a été envisagée après le traitement par chromatographie et/ou spectrométrie de masse.

Pour les mammites mycosiques, jusqu'au jour de la rédaction de cette étude, aucune publication traitant le sujet de l'essai clinique des traitements à base des huiles essentielles n'a été retrouvée. Seuls des évaluations *in vitro* de quelques huiles essentielles vis-à-vis de quelques isolats du lait ont fait l'objet de publication.

9.5. Présentations des plantes utilisées

9.5.1. *Cinnamomum aromaticum*

Cinnamomum Cassia appelée aussi *Cinnamomum aromaticum*, est originaire du Sud-est de la Chine où elle est fortement cultivée, elle est aussi présente au Vietnam et au Laos. Cette espèce qui appartient à la famille des lauracées (*Lauraceae*) et appelée en arabe El Kerfa (القرفة) est communément nommée cannelier de Chine, casse, cannelier casse, cassia et fausse cannelle (Ebrhard teuscher *et al.*, 2005).

La cannelle de Chine est une épice médicinale extrêmement puissante. Elle a été utilisée depuis 5000 ans par les deux anciennes médecines, la médecine ayurvédique d'Inde et la médecine traditionnelle chinoise, pour ses propriétés curatives de certains troubles digestifs, inflammations, maux de tête, pyrexie, nausée, anorexie et du rhume. Elle possède également des vertus aromatiques et stimulantes respiratoires, nerveuses et immunitaires (Auteroche, 1993). Cette épice est souvent utilisée pour son huile essentielle, constituée essentiellement en : Cinnamaldéhyde (80 à 95%), méthoxycinnamaldéhyde (jusqu'à 1%), Alcool et l'acide cinnamique (Wang *et al.*, 2008).

9.5.2. *Mentha spicata*

La menthe verte (*Mentha spicata* L.) est une plante aromatique vivace stolonifère. Les feuilles sont d'un vert foncé, les plus jeunes sont d'un vert clair brillant. Elles sont sessiles, ovales, lancéolées à dents de scie et acuminées et glabres.

Les inflorescences sont des épis allongés, de couleur blanche ou pourpre. Les étamines sont plus longues que la corolle et écartées entre elles. La menthe verte est très commune en Afrique du nord (Paris et Moyse, 1965)

L'huile essentielle de *Mentha spicata* est très riche en 1- carvone (47,92%), en limonène (21,02%) et eucalyptol (5,63%) (Taleb-Toudert, 2015).

9.5.3. *Syzygium aromaticum*

Originaire de Madagascar, la Réunion, les Antilles, le giroflier est également cultivé en Indonésie et en Tanzanie. Les clous de girofle américains sont réputés être de qualité inférieure à cause de leur plus faible teneur en huile essentielle (Alice, 2011). Il s'agit du boutons floraux et sont récoltés une à deux fois par an, avant l'épanouissement, lorsque les sépales deviennent rouge vif, on les sèche au soleil jusqu'à obtenir une coloration brune.

Le giroflier est surtout cultivé pour ses "clous" qui servent d'aromates dans l'alimentation d'un grand nombre de pays. On cultive également le giroflier pour ses feuilles dont on extrait une essence très riche en eugénol. Accessoirement, on utilise les fruits de giroflier ou antofles pour la confiserie.

L'eugénol est le composant principal de l'essence de clou de girofle, Eugénol ou 4-allyl-2-méthoxyphénol, liquide pratiquement incolore, brunissant à l'air à une formule brute $C_{10}H_{12}O_2$, est une molécule possédant un cycle aromatique, ce qui est caractéristique des 40 composés d'origine naturelle. C'est pourquoi cette molécule peut être obtenue au moyen d'extraction à partir d'huile essentielle de clou de girofle (Atmani et Baira, 2015).

10. Prophylaxie des mammites fongiques

Comme on a déjà détaillé précédemment, le traitement des mammites mycosiques est problématique et est dans la majorité des cas sans résultat ; donc la prophylaxie et la prévention sont d'une importance capitale pour le contrôle des mammites mycosiques.

En effet ; la connaissance du "scénario épidémiologique" de la maladie est fondamentale pour le développement des mesures adéquates de prévention des mammites (Philipot, 1979). Les mesures de lutte contre les mammites sont de nature médicale (traitement des animaux atteints ou stimulation des moyens de défense spécifique ou non spécifique) ou sanitaire (réforme des incurables, intensification de l'hygiène et de la technique de traite). Elles ont pour but essentiel de réduire la prévalence des infections dans le troupeau en agissant sur la persistance et/ou sur l'incidence des infections (Hanzen, 2007)

10.1. Prophylaxie médicale

Selon Radostitis *et al.*, (1994), la vaccination contre l'infection mammaire n'a pas de valeur significative dans le contrôle de la mammite. De plus, jusqu'à présent, il n'existe pas de vaccins contre les agents mycosiques impliqués dans la pathologie mammaire.

L'antibiothérapie préventive au début du tarissement n'a aucun effet sur la prévention des mammites mycosiques, au contraire, elle peut constituer un facteur favorisant ; donc le grand soin doit être pris pour éviter de contaminer les applicateurs d'antibiotique utilisés lors du traitement préventif ou curatif des mammites bactériennes.

D'après Radostitis *et al.*, (1994), un supplément en vitamine E et en sélénium permet de réduire l'incidence des mammites aiguës.

10.2. Prophylaxie sanitaire

En raison de l'ubiquité des champignons dans l'environnement des animaux, la mammite mycosique est qualifiée de « mammite environnementale ». La stratégie de prévention sanitaire de ce genre de mammite est concentrée sur l'application et l'amélioration des mesures d'hygiène et la lutte contre les facteurs prédisposant.

10.2.1. L'habitat

Lors de la conception des locaux, on doit prendre en considération quelques paramètres techniques assurant aux animaux une ambiance microclimatique adéquate (Fontaine, 1993).

Donc, une conception adéquate doit assurer le maintien d'une bonne aération, d'une température adéquate et d'un degré d'hygrométrie optimum. Le degré hygrométrique et la chaleur doivent être contrôlés pour éviter la création d'un milieu favorable au développement des champignons.

Le but de la désinfection des locaux est de diminuer la concentration des éléments mycosiques (champignons et spores) dans l'étable et de limiter la contamination des trayons de la mamelle par ces éléments.

L'état d'hygiène de l'environnement des animaux peut indirectement être évalué par le calcul de l'indice de propreté des animaux. Un mauvais état de propreté favorise une augmentation de la contamination du lait en germes butyriques et totaux, augmente le risque de mammites, constitue un surcroît de travail pour le nettoyage des trayons (Hanzen, 2009).

Le choix du désinfectant antifongique est d'une importance capitale. De plus, le degré de dilution des désinfectants constitue un élément clé dans la réussite de cette opération. Le lavage des étables avec des préparations à base de soude (2 %) et de formol (5 %). On utilise cette solution à la dose de 1 litre par m² et un contact de 2 jours est nécessaire (Euzeby, 1969). D'après Fontaine, (1993), les désinfectants de choix utilisés possédant des propriétés fongicides sont : l'iode et dérivés iodés ; Glutaraldéhyde ; Phénols de synthèse. Cependant, il faut prendre en considération le fait que l'iode est inactif en présence de matière organique d'où l'intérêt de l'élimination de la litière avant la désinfection du bâtiment. De plus, les phénoliques sont corrosifs aux métaux.

10.2.2. Hygiène et technique de traite

On sait bien que la période la plus critique et la plus favorable à la contamination de la mamelle par les éléments fongiques est représentée par la période de traite ainsi que les heures qui la suivent car le sphincter toujours ouvert est perméable aux microorganismes, ce qui facilite l'introduction des champignons dans la mamelle. Le canal du trayon reste ouvert pendant 2 à 3 heures après la traite (Sharif et Muhammad, 2009).

L'hygiène de traite est considérée comme un élément primordial dans la prévention des mammites mycosiques, elle fait intervenir non seulement l'hygiène de la mamelle, la machine de traite mais aussi le personnel assurant la traite. L'hygiène du personnel de la traite ainsi que la machine à traire déterminent le degré de contamination et le nombre de germes transférés à la mamelle (Chambers, non daté).

Il faut dire que la technique de traite doit suivre tout un système de gestion qu'on peut modifier en fonction des différents paramètres et dont le but final sera de réduire au maximum la contamination de la mamelle par l'intermédiaire de la machine de traite et les mains du personnel. Il est important de décrire les différentes étapes de l'hygiène de la traite, tout en démontrant les principales fautes commises au cours de cette étape de l'élevage.

D'après Radostits *et al.*, (1994), le pré trempage permet de diminuer la concentration des éléments microbiens présents sur la peau du trayon. La décontamination mécanique doit suivre les décontaminations chimique et biologique. Elle sera obtenue par l'essuyage indispensable du trayon au moyen de la même serviette individuelle essorée qui a servi au lavage du trayon ou mieux au moyen de papier jetable de bonne qualité (Hanzen, 2009). L'essuyage de la mamelle après désinfection doit se faire avec des lavettes individuelles à usage unique. L'hygiène après la traite (post-trempage) a pour but de détruire les microbes sur la peau des trayons à l'aide de désinfectants (Iodophores, Chlorexidine, Chlorite de sodium + acide lactique,...). En outre, ces produits de trempage, créés pour désinfecter les trayons après la traite, ont montré une activité bénéfique dans les soins de trayons porteurs de crevasses ou de gerçures.

La machine à traire peut aussi être considérée comme une source de contamination d'où l'intérêt de la désinfection et l'entretien de la machine à traire. La machine de traite peut augmenter le risque d'apparition des mammites par divers mécanismes. Elle peut induire l'apparition de lésions (effet traumatisant), favoriser la dissémination de germes (rôle de vecteur) ou leur passage dans la mamelle (rôle infectant) (Federici-Mathieu et Godin, 2002).

Selon Gonzalez *et al.*, (2001), le risque potentiel de transmission des champignons impliqués dans la pathologie mammaire par le biais de la machine de traite a été reporté par Yeh *et al.*, (1988).

10.2.3. L'Alimentation

Le déterminisme alimentaire des mammites est loin d'être complètement élucidé. Ces relations semblent être essentiellement de nature indirecte et résultent de l'effet prédisposant de certains désordres nutritionnels sur des pathologies favorisant elles-mêmes l'apparition des mammites (Hanzen, 2009). En général, il faut veiller à ce que l'alimentation des bovins soit équilibrée d'un point de vue quantitatif et qualitatif. De même, il faut réduire au maximum les risques de contamination des aliments au cours de leur fabrication, stockage et distribution. La distribution des aliments dans des mangeoires propres et suffisamment loin des sources de contamination est essentielle.

10.2.4. La sélection génétique

Il semble que l'on puisse mettre en évidence (numération cellulaire, distance de la mamelle par rapport au sol, capacité phagocytaire) dans certaines lignées d'animaux présentant une prédisposition d'origine génétique concernant la sensibilité aux mammites (Hanzen, 2009). Ce constat concernant les mammites d'origine bactérienne reste à démontrer dans le cas des mammites mycosiques.

10.3. Conclusion

La mammite due aux microorganismes d'origine environnementale ne peut pas être éradiquée mais peut être contrôlée par la réduction de l'exposition des animaux aux sources probables de ces microorganismes et par le renforcement des mécanismes de défense de l'animal (Smith et Hogan, 1993). Le contrôle des facteurs dit : « facteurs de risque » représente le seul moyen efficace permettant de réduire l'incidence des mammites mycosiques.

A solid red rectangular block, positioned on the right side of the page. It contains the text 'PARTIE EXPERIMENTALE' in white, bold, uppercase letters.

**PARTIE
EXPERIMENTALE**

Après avoir présenté les objectifs de cette étude dans l'introduction de ce document, nous aborderons l'étude expérimentale des mammites fongiques. Dans un souci de clarté, nous avons scindé cette partie en deux volets indépendants :

Dans un premier temps, nous décrirons la prévalence des mammites fongiques et leurs relation avec quelques facteurs de risque (état d'embonpoint, score lésionnel de l'orifice du trayon, état d'hygiène de la mamelle), les résultats seront ensuite détaillés et commentés.

Dans la seconde partie, les résultats de l'antibiogramme et de l'aromatogramme seront exposés et discutés.

Finalement, une conclusion et des recommandations seront exposées dans le but de clarifier les moyens de lutte appropriée à ce type de mammite.

1 Description de la région d'étude

La wilaya de Tiaret est située à 300 km au sud-ouest d'Alger, appartient à la zone des hauts plateaux, intercalée entre l'Atlas tellien et l'Atlas saharien. Son relief varie avec des altitudes comprises entre 800 et 1200 m.

La wilaya de Tiaret présente sur le plan physique trois grandes zones distinctes : au nord : une zone montagneuse de l'Atlas tellien ; au centre : les hauts plateaux ; au sud : des espaces semi arides. Le climat semi-aride est rigoureux, avec une saison hivernale courte et froide, une saison chaude longue et sèche, on y relève l'importance de la saison chaude et sèche qui peut s'étendre sur six mois (de mai jusqu'à octobre) La pluviométrie est limitée, de l'ordre de 300 à 400 mm/an (Source : Wikipédia).



Figure 8: Carte géographique de l'Algérie avec la situation de la wilaya de Tiaret (Source : Wikipédia, 2017).

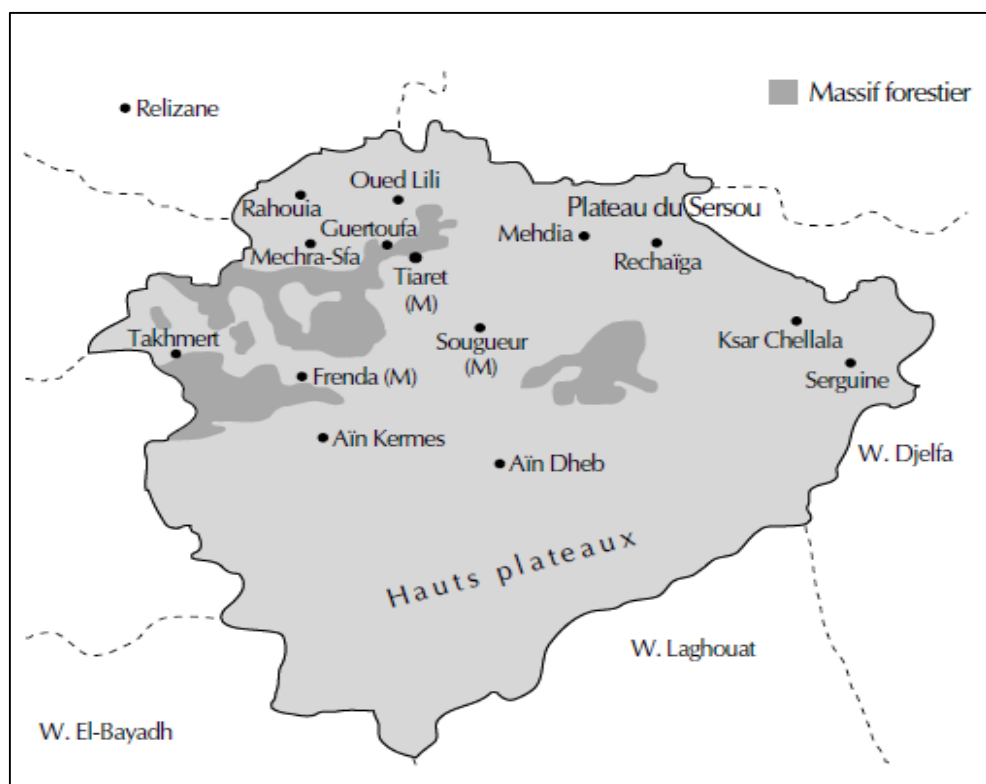


Figure 9: La wilaya (district) de Tiaret (Boulkaboul, 2003).

2 Critères de choix des troupeaux

Les critères retenus pour le choix des sites de l'étude étaient déterminés en fonction de la problématique et des objectifs de la recherche. Le choix des troupeaux impliqués dans notre étude a été fait selon des critères qui garantissent l'uniformité de la gestion générale du troupeau et en particulier la gestion de la mammite. Sur le terrain, un questionnaire détaillé (**Annexe 1**) a été adressé aux gérants/éleveurs des troupeaux dans le but de recueillir des informations concernant la gestion du troupeau, le déroulement de la traite et la thérapie de la mammite. Cette étape est importante pour réduire au maximum les différences entre les troupeaux qui peuvent interférer lors de l'analyse des résultats.

En plus des critères d'inclusion des élevages cités ci-dessus, le choix des élevages retenus pour notre expérimentation était en partie dicté par la volonté des propriétaires de participer à cette étude.

3 Dispositif expérimental :

Comme mentionnée au début de cette partie, le présent projet de recherche peut être divisé en deux parties :

Pour la première partie de l'étude, l'objectif est de mesurer la prévalence des mammites mycosiques et l'influence de quelques paramètres sur la manifestation de cette pathologie.

Pour la deuxième partie, l'objectif était dans un premier temps de mesurer la prévalence des mammites mycosiques et bactériennes au niveau de quelques élevages laitiers de la région de Tiaret. Dans un deuxième temps, une mesure de la sensibilité de quelques bactéries isolés vis-à-vis aux antibiotiques et à quelques huiles essentielles est réalisé afin de tracer un bilan à propos de la résistance des germes isolés vis-à-vis des antibiotiques (l'antibiorésistance), et de proposer un traitement alternatif à base d'huiles essentielles.

Partie 1

3.1.1 Période d'étude

Cette première partie a été réalisée sur une période de 8 mois de l'année 2012, durant la période s'étendant de Mars à Octobre 2012.

3.1.2 Effectif des vaches laitières

Un ensemble de 166 vaches issues de 8 exploitations nous était disponible pour la réalisation de cette partie de l'étude, qui consistait en la détermination de la prévalence des mammites mycosiques et la mesure de l'influence de quelques facteurs de risque.

La taille moyenne des élevages suivis durant cette partie était de 24 ± 5 (moyenne $\pm$ écart-type) vaches en lactation, avec des effectifs variant entre 18 et 35 vaches.

3.1.3 Plan de travail

Une étude transversale était réalisée dans le but d'analyser l'influence de l'état d'embonpoint, de l'état de l'orifice du trayon et de l'état d'hygiène de la mamelle sur la manifestation des mammites fongiques.

Seuls les échantillons de lait de quartiers présentant une mammite clinique ou subclinique ont été prélevés de manière aseptique pour l'identification des champignons.

Au total, 261 échantillons de lait ont été collectés à partir de quartiers qui présentaient une réaction positive au CMT (*California Mastitis Test*).

La note lésionnel du trayon a été évalué visuellement et marqué en se référant à la méthode décrite par Mein *et al.*, (2001) : note 1 : normale, pas de lésions ; note 2 : anneau lisse / légèrement rugueux ; note 3 : orifice rugueux ; note 4 : très rugueux / sévèrement hyperkératosé ; et la note 5 : lésions ouvertes ou cicatrices. Seuls les trayons marqués 3, 4 ou 5 peuvent être considérées comme un « facteur de risque », pouvant être à l'origine de l'augmentation de l'incidence des cas de mammite (Kirk et Sisco, 2003).

L'évaluation de l'état d'hygiène de la mamelle était réalisé selon la méthode proposée par Ruegg, (2002), qui permet de classer la mamelle en 4 catégories : Note 1 : propre ; note 2 : légèrement souillée ; note 3 : très souillée ; et la note 4 : extrêmement souillée.

L'évaluation de l'état d'embonpoint était réalisée suivant l'échelle proposée par Edmonson et *al.*, (1989) et utilisée aux Etats-Unis, qui s'étale de la note 1 à la note 5.

3.1.4 Au niveau des exploitations

3.1.4.1 Méthodes utilisées au niveau des exploitations laitières

3.1.4.1.1 Examen clinique des vaches

Un examen spécial de la glande mammaire est effectué dans le but de détecter les animaux présentant les signes d'une atteinte de mammite, d'indurations au niveau du tissu mammaire, l'état des ganglions supra-mammaires, les lésions de la mamelle et des trayons ainsi que les anomalies morphologiques d'origine congénitale ou acquise.

3.1.4.1.2 Technique de prélèvement pour l'analyse mycologique

Les prélèvements de lait ont été réalisés au niveau de la salle de traite ou au niveau des étables. Un échantillon de lait d'environ 5 ml est prélevé à partir de chaque quartier présentant une réaction positive au CMT.

Nous avons accordé une grande importance au respect des règles d'asepsie et d'antisepsie au cours de la réalisation de ces prélèvements à cause de l'ubiquité des champignons pouvant influencer le diagnostic. En effet, pour limiter au maximum la contamination des prélèvements de lait, une double désinfection du trayon était réalisée avant de procéder au prélèvement des échantillons. Les prélèvements de lait ont été réalisés selon les recommandations de la *National Mastitis Council* (Hogan et *al.*, 1999) :

1. Elimination des premiers jets dans un bol à fond noir et examen visuel du lait.
2. Lavage de la mamelle avec l'eau et élimination des particules d'excréments.
3. Essuyage avec une éponge propre.
4. Désinfection des trayons en les trempant dans une solution désinfectante.
5. Essuyage avec du papier absorbant.
6. Désinfection de l'extrémité du trayon à l'aide d'alcool, puis essuyage avec une compresse stérile.

7. La récolte du lait se fait en orientant le trayon horizontalement. Le flacon est maintenu incliné 45° pour éviter de le contaminer avec les salissures de la mamelle.

8. Marquage et identification du flacon (numéro de la vache, quartier) et sa mise au dans la glacière.

3.1.4.1.3 Méthode d'évaluation de la note de l'état corporel (NEC)

La note de l'état corporel ou le *BCS* (*Body Condition Score*) des vaches était évalué suivant l'échelle proposée par Edmonson et *al.*, (1989) et utilisée aux Etats-Unis, selon une échelle de notation de 1 à 5.

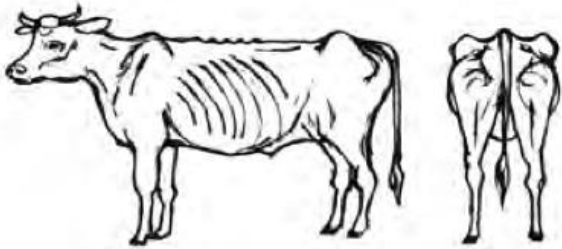
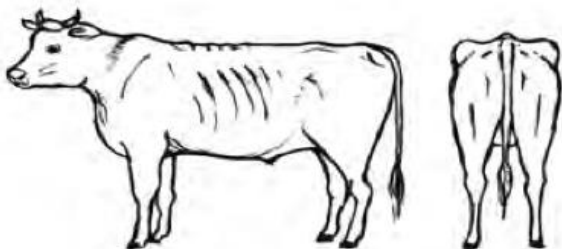
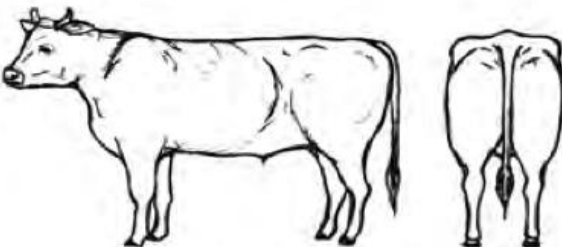
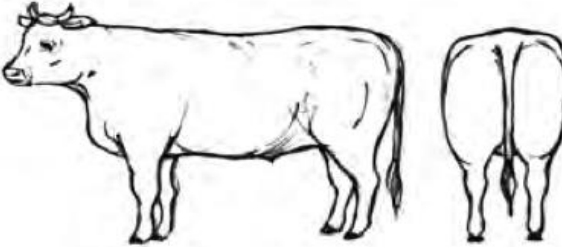
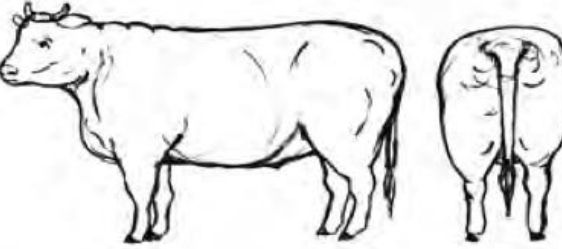
	Condition score 1 - Backbone prominent - Hips and shoulder bones prominent - Ribs clearly visible - Tail-head area recessed - Skeletal body outline
	Condition score 2 - Backbone visible - Hips and shoulder bones visible - Ribs visible faintly - Tail-head area slightly recessed - Body outline bony
	Condition score 3 - Hip bones visible faintly - Ribs generally not visible - Tail-head area not recessed - Body outline almost smooth
	Condition score 4 - Hip bones not visible - Ribs well covered - Tail-head area slightly lumpy - Body outline rounded
	Condition score 5 - Hip bones showing fat deposit - Ribs very well covered - Tail-head area very lumpy - Body outline bulging due to fat

Figure 10: Grille de notation de l'état corporel (Edmonson *et al.*, 1989).

3.1.4.1.4 Méthode d'évaluation de l'état d'hygiène de la mamelle

Cette méthode proposée par Ruegg, (2002) permet d'évaluer l'état d'hygiène de la mamelle « *Udder hygiene score (UHS)* » en classant les mamelles en 4 catégories : *Note 1* : propre ; *note 2* : légèrement souillée ; *note 3* : très souillée ; et la *note 4* : extrêmement souillée.

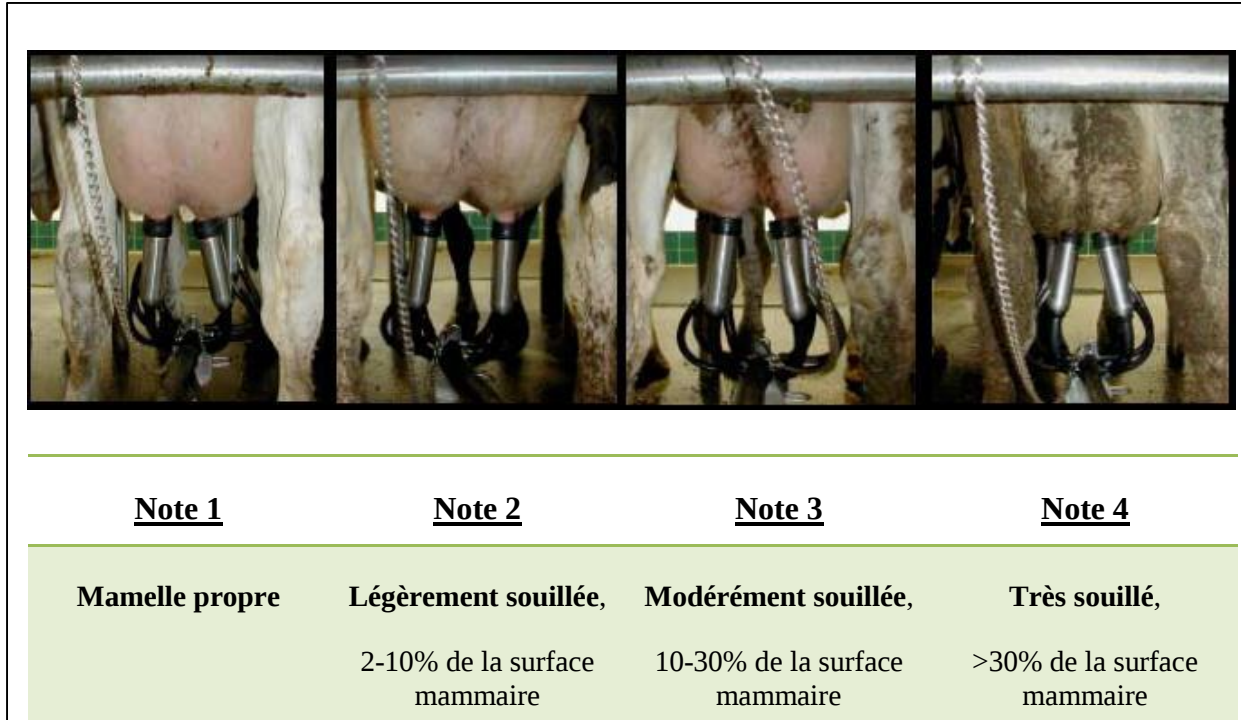


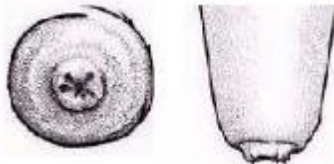
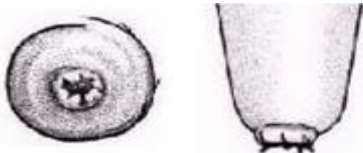
Figure 11: Grille de notation de l'état de propreté de la mamelle (Ruegg, 2002).

Selon Ruegg, (2002), seules les mamelles avec les notes 3 ou 4, c'est-à-dire avec plus de 10% de la surface de la mamelle souillée présentent un risque de mammite.

3.1.4.1.5 Méthode d'évaluation de l'état de l'orifice du trayon (*Teat end score*)

Au cours de l'examen spécial de la mamelle, on a noté le score lésionnel de l'orifice du trayon en utilisant une table spéciale proposée par Mein *et al.*, (2001), présentée ci-dessous.

Tableau 1 : Notation de l'état de l'orifice du trayon (*Teat end condition score card*).

Notes	Description	Illustrations
Note 1 (N)	Absence de l'anneau L'orifice du trayon est lisse et bien ouvert. Cela correspond le plus souvent à la morphologie de l'orifice du trayon au début de la lactation.	
Note 2 (S)	Orifice lisse ou présence d'un anneau légèrement rugueux Un anneau apparent encercle l'orifice du trayon. La surface de l'anneau est lisse et légèrement rugueuse mais les fragments de kératine ne sont pas apparents.	
Note 3 (R)	Anneau rugueux Un anneau apparent et rugueux avec présence de fragments de kératine constituant un court prolongement sur la surface de l'orifice.	
Note 4 (VR)	Anneau très rugueux Un anneau apparent avec présence de fragments de kératine s'étendant de l'orifice. Le rebord de l'orifice est rugueux et peut être fendillé donnant à l'orifice du trayon l'aspect d'une « fleur ».	
Note 5	Lésions ouvertes ou cicatrices	Non schématisé

Seuls les trayons marqués 3, 4 ou 5 peuvent être considérées comme un “facteur de risque”, pouvant être à l’origine de l’augmentation de l’incidence des cas de mammite (Kirk et Sischo, 2003).

3.1.5 Au niveau du laboratoire

Pour cette première partie, l’analyse mycologique des prélèvements a été réalisée au niveau du laboratoire de Parasitologie / Mycologie de l’Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (E.N.S.V.) – Alger.

3.1.5.1 Méthode d’analyse et d’identification mycologique

L’objectif de cette étape est d’analyser les différents échantillons de lait collectés dans le but d’identifier le genre et éventuellement l’espèce fongique.

L’identification des moisissures est réalisée en se basant sur les critères macroscopiques et microscopiques, comme décrits par Euzeby, (1969).

Afin d’identifier les levures isolées une caractérisation morphologique, physiologique et biochimique a été réalisée comme décrit par Pincus et *al.*, (2007). Le schéma général suivi au niveau du laboratoire est résumé sur la figure suivante :

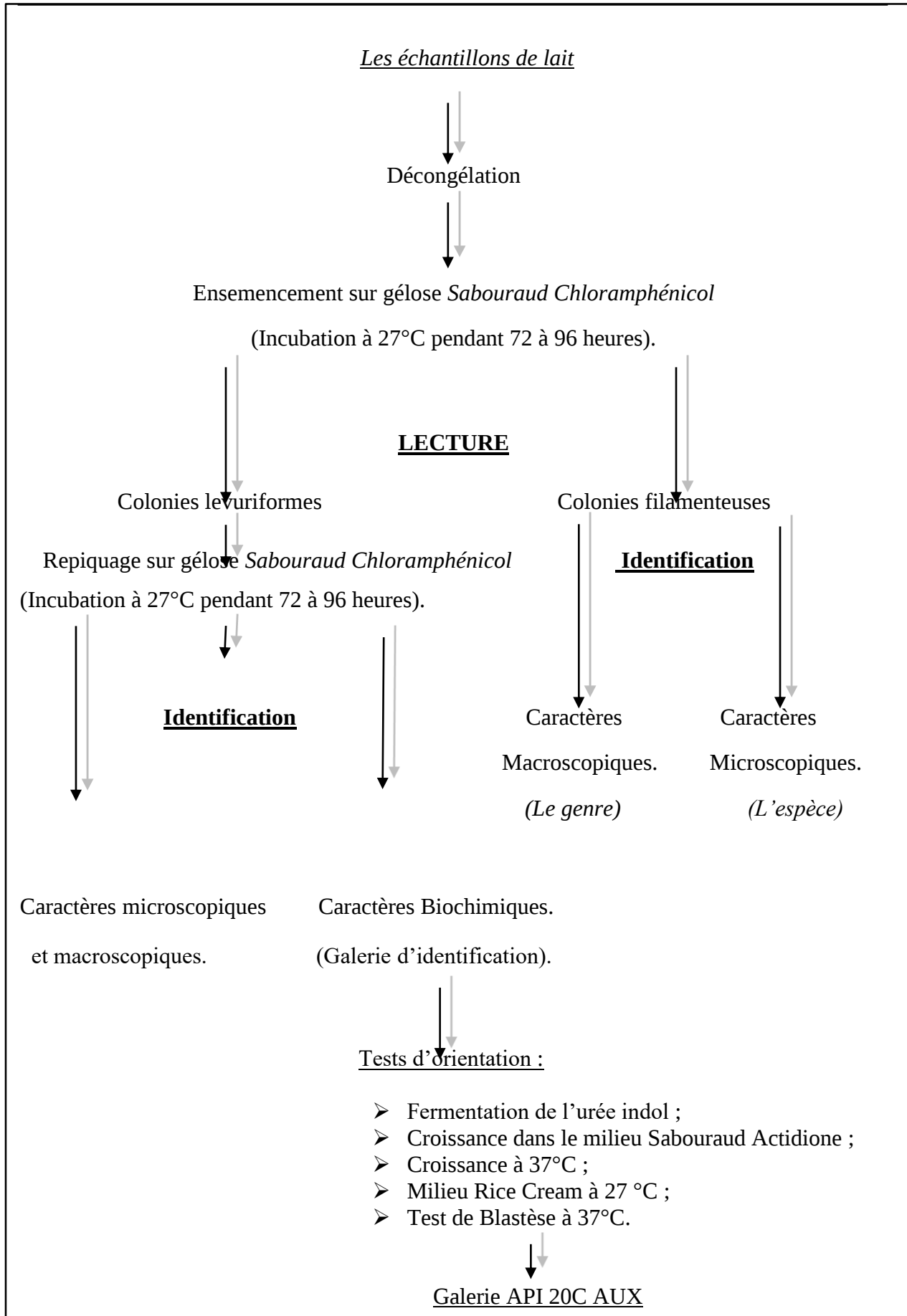


Figure 12: Schéma général de la méthode d'identification mycologique.

3.1.5.1.1 Mise en culture sur milieu usuel (Sabouraud Chloramphénicol à 27°C)

Avant la mise en culture, les échantillons de lait ont été homogénéisés à l'aide d'un agitateur vortex pendant 15 secondes. Ensuite, à l'aide d'une pipette pasteur, quelques gouttes sont aspirées puis déposées et étalées sur toute la boîte avec un râteau d'étalement préparé à partir d'une pipette pasteur. Les échantillons ont été étalés et mis en culture sur *Sabouraud chloramphénicol* (Institut Pasteur, Alger) pendant 96 heures à 27 ° C.

3.1.5.1.2 Repiquage sur milieu usuel (Sabouraud Chloramphénicol à 27°C)

Afin d'obtenir des cultures pures, on a procédé au repiquage des souches sur milieu usuel, à partir de colonies bien isolées,

Pour les infestations mixtes, c'est-à-dire présence de colonies de formes différentes, un prélèvement à partir de chaque type de colonie a été effectué etensemencé dans une nouvelle boîte de pétri à fin d'obtenir des cultures pures.

3.1.5.1.3 Tests d'orientation

Cinq paramètres ont été retenus pour les tests d'orientation qui permettent l'identification de quelques espèces fongiques levuriformes. Les tests d'orientation réalisés sont comme suit :

3.1.5.1.3.1 Culture dans le milieu de culture Sabouraud à 37 °C

La même procédure a été suivie comme pour l'ensemencement à 27°C. La lecture est faite après 48 heures d'incubation.

3.1.5.1.3.2 Culture dans le milieu de culture Sabouraud/Actidione à 27 °C

Le but de ce test est de mesurer le pouvoir de croissance de la souche isolée en présence de l'Actidione. Une seule colonie isolée est récupérée et est ensuite ensemencée sur une gélose Saubouraud /Actidione inclinée en tube à 27 °C, pendant 48 heures.

3.1.5.1.3.3 Milieu *Rice Cream* à 27 °C

L'objectif de ce test est de mettre en évidence le pouvoir des champignons levuriformes à produire ou pas des filaments mycéliens ou des filaments pseudomycéliens.

Pour la réalisation de ce test on a ensemencé dans le milieu *Rice Cream* une seule colonie qu'on a recouvert ensuite avec une lamelle stérilisée devant la flemme du bec bunsen pour avoir

l'anaérobiose. Les boîtes sont incubées à 27 °C puis une lecture est faite sous microscope au grossissement x100 et x400, 24 heures après incubation.

3.1.5.1.3.4 Test de Blastèse à 37 °C (chlamidosporulation)

L'objectif de ce test est de mettre en évidence le pouvoir des souches isolées à produire des tubes germinatifs (chlamidosporulation) caractéristiques de l'espèce *Candida albicans*.

Pour la réalisation de ce test, un fragment de colonie est ensemencé dans un tube stérile contenant 1 ml de sérum de bovin. On a utilisé l'agitateur pour tube afin obtenir un mélange homogène. Les tubes sont ensuite incubés pendant 4 heures à 37 °C. Enfin, une goutte du culot de chaque tube est déposée entre lame et lamelle pour effectuer une lecture au microscope à un grossissement de x100 et x400.

3.1.5.1.3.5 Test de l'urée indole à 37 °C

L'objectif de ce test est de mettre en évidence le pouvoir de la levure à réduire ou non l'urée indole, qui se traduit par un changement de la couleur du milieu de culture, et permet d'identifier quelques espèces appartenant au genre *Cryptococcus sp.*

Un fragment de colonie est ensemencé dans un tube contenant de l'urée indole. La lecture des résultats est faite après 4 heures et puis 24 heures d'incubation à 37°C.

La lecture de la galerie est facilitée grâce à l'emploi de la table d'identification des levures proposé par Dufresne (2014).

3.1.5.1.4 Galerie d'identification biochimique (API 20C AUX)

Ce test permet de mesurer l'assimilation de 19 sucres (auxanogramme) déposés sur des microtubes qui forment une galerie. Chaque galerie contient 20 microtubes (19 pour le test et 1 comme témoin positif, pour faciliter la lecture des résultats). Ces microtubes sont inoculés avec un milieu semi-gélosé et les levures poussent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.

Avant l'inoculation, un inoculum d'une turbidité de 2 McFarland à l'aide d'un spectrophotomètre à une densité optique (D.O.) de 0,32 à 0,4 lue à 625nm.

La galerie est incubée à 27°C pendant 24h pour une première lecture et 48h pour une deuxième lecture.

L'interprétation des résultats est faite à l'aide du logiciel *Apiweb*TM, développé par BioMerieux (<https://apiweb.biomerieux.com/>).

3.2 Partie 2

3.2.1 Période de l'étude

Au niveau des exploitations, cette deuxième partie du présent travail était réalisée sur une période de 7 mois, durant la période s'étendant de Décembre 2014 à Juin 2015.

3.2.2 Effectif de vaches laitières

Un ensemble de 228 vaches issues de 14 exploitations, nous étaient disponibles pour la réalisation de cette partie de l'étude.

Sur le plan épidémio-clinique, cette partie a consisté en la détermination de la prévalence des mammites bactériennes et mycosiques.

3.2.3 Plan de travail

3.2.3.1 Au niveau des exploitations

Comme pour la première partie, une étude transversale est réalisée dans le but de mesurer la prévalence de la mammite mycosique ainsi que celle de la mammite bactérienne.

Pour cette partie de l'étude, les mêmes étapes et les mêmes procédures ont été suivies pour la collecte des informations et des prélèvements au niveau des exploitations (voir partie 1).

3.2.3.2 Au niveau du laboratoire

L'analyse bactériologique et mycologique des prélèvements a été réalisée dans le laboratoire de Microbiologie au niveau de l'Institut des Sciences Vétérinaires (I.S.V.) – Tiaret.

L'analyse microbiologique ainsi que la collecte des prélèvements au niveau des exploitations ont été réalisés en collaboration avec *Dr. Khaldi Fatima*, dans le cadre de la réalisation de sa thèse de magistère en sciences vétérinaires.

La partie de l'aromatogramme a été réalisée en collaboration avec *Dr. Selles Sidi Mohamed Ammar*, au niveau du Laboratoire de Valorisation des Produits Locaux.

3.2.3.2.1 Méthodes d'analyse et d'identification microbiologique

L'objectif de cette étape est d'analyser les différents prélèvements obtenus dans le but d'identifier le genre et l'espèce des bactéries pathogènes. Le schéma général suivi pour l'analyse microbiologique des échantillons de lait au niveau du laboratoire était comme suit :

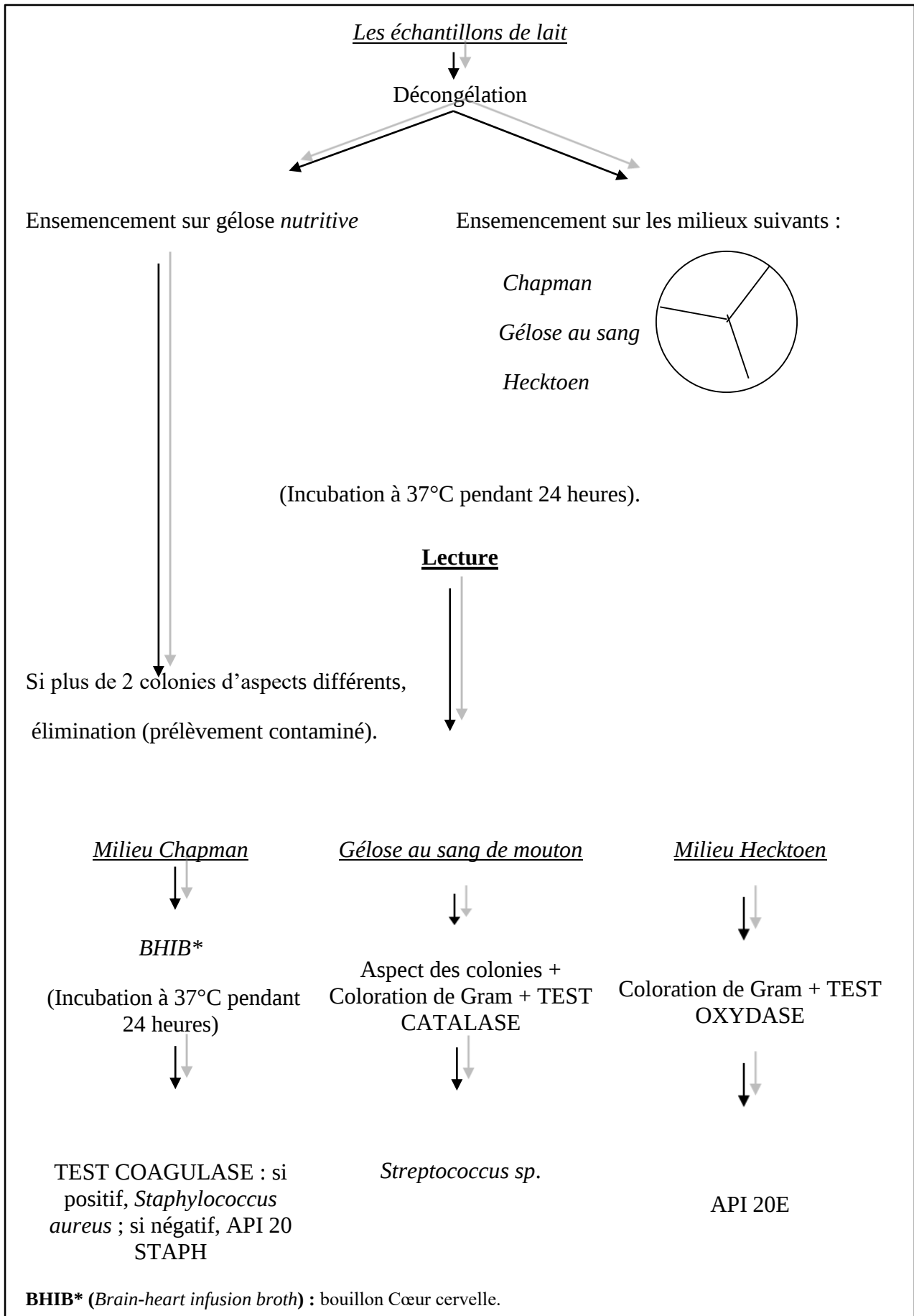


Figure 13: Schéma général de la méthode d'identification microbiologique du lait.

3.2.3.2.1.1 Mise en culture sur milieu usuel

L'incubation est réalisée sur une gélose nutritive à 37°C pendant 24 heures. Cette mise en culture permet de tester la qualité des échantillons de lait, c'est-à-dire s'il y a ou non contamination des échantillons. En cas de coexistence de plus de 2 colonies d'aspects différents, l'échantillon était qualifié comme étant contaminé et éliminé.

3.2.3.2.1.2 Mise en culture sur milieu Chapman

L'incubation est réalisée sur une gélose de Chapman à 37°C pendant 24 heures. Ce milieu de culture permet l'isolement des *staphylococcus sp.* La croissance des bactéries se caractérise par le virage ou pas de la couleur du milieu vers le jaune, résultat de la fermentation du mannitol (orientation de l'identification).

3.2.3.2.1.3 Mise en culture sur gélose au sang

L'incubation est réalisée sur une gélose au sang à 37°C pendant 24 heures. Ce milieu permet de mettre en évidence le caractère hémolytique des colonies.

3.2.3.2.1.4 Mise en culture sur milieu Hecktoen

L'incubation est réalisée sur gélose Hecktoen à 37°C pendant 24 heures. C'est un milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes, c'est-à-dire de mettre en évidence les bactéries Gram négatif.

3.2.3.2.1.5 Tests biochimiques

a. Test de la coagulase

Ce test permet de mettre en évidence le pouvoir des *Staphylococcus sp.* à produire ou pas une enzyme appelée la coagulase. Cette enzyme est capable d'induire la coagulation du plasma sanguin, et permet de classer les staphylocoques en deux catégories : staphylocoque à coagulase positive, *Staphylococcus aureus* ; et les Staphylocoques à coagulase négative (SCN).

Pour réaliser ce test, on a incubé une colonie prélevé à partir du milieu Chapman dans 5 ml de BHIB à 37°C, pendant 24 heures. A la fin de la période d'incubation, 1 ml de BHIB et ajouté à 1ml de plasma de lapin et le mélange est incubé à 37°C, pendant 24 heures. A l'issue de cette

période d'incubation, s'il y a formation d'un coagulat, la souche est qualifiée comme étant *Staphylococcus aureus* ; dans le cas contraire, elle est qualifiée comme étant un SCN.

b. Test de la catalase

La recherche de cette enzyme permet de différencier les streptocoques catalase (-) des staphylocoques et des microcoques catalase (+).

Ce test permet de mettre en évidence la production de cette enzyme par les bactéries. Pour cela, une colonie de bactérie à étudier est mise en contact en présence de l'eau oxygénée. Une effervescence (dû à un dégagement de dioxygène) signe la présence d'une catalase. Dans le cas contraire, aucune réaction ne se produit.

c. Le test de l'oxydase

Ce test permet de mettre en évidence la capacité d'une enzyme bactérienne à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé.

Pour la réalisation du test, un disque imprégné incolore spécial pour test oxydase est mis sur une lame, et avec une pipette Pasteur, une colonie est prélevée à partir de la boîte contenant le milieu Hecktoen et déposée sur le disque. La lecture est faite dans les 30 secondes. Si le test est positif, il y a virement de couleur du disque vers le violet. Dans le cas d'une réaction à oxydase (-), le disque reste incolore.

3.2.3.2.1.6 Galeries biochimiques API (*Analytical Profile Index*)

a. Principe des galeries API

Les tests API permettent soit de mettre en évidence la capacité à fermenter des sucres, comme pour la galerie API® 20C AUX (auxanogramme), soit de rechercher directement les enzymes bactériennes susceptibles de produire une réaction enzymatique en présence du substrat déshydraté présent dans les microtubes de la galerie (API® STAPH ; API® 20E...).

Ces tests sont standardisés et permettent une identification de quelques souches microbiennes à l'échelle de l'espèce.

Pour l'analyse microbiologique des échantillons de lait prélevés dans le cadre de notre travail, on a utilisé des galeries API® STAPH pour l'identification des souches SCN, et API® 20E

pour l'identification des Entérobactéries, en se référant aux instructions du fabricant (Bio Mérieux, 2010).

b. Galerie API® STAPH

Une suspension bactérienne (l'inoculum) à 0,5 McFarland est préparée dans l'*API Staph Medium* et est inoculée dans les 20 microtubes de la galerie contenant des substrats déshydratés.

Pour la préparation de l'inoculum, à partir d'une culture pure, nous avons préparé une suspension bactérienne à 0,5 McFarland (soit **10⁸ UFC/ml**) à l'aide d'un spectrophotomètre à une densité optique (D.O.) de 0,08 à 0,10. La lecture était faite à la longueur d'onde de 625nm.

La galerie est incubée à 37°C pendant 24 heures, et les réactions produites se traduisent par un virage de couleur avec ou sans addition de réactifs spécifiques.

A la fin de l'incubation, le résultat de la lecture des galeries est réalisé par un logiciel appelé *Apiweb*™, développé par Bio Mérieux (<https://apiweb.biomerieux.com/>).

c. Galerie API® 20E

Le même principe que celui de la galerie API® STAPH s'applique pour cette galerie.

Cette galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. L'inoculum de 0,5 McFarland est préparé avec le réactif *API NaCl 0,85 % Medium*, et la galerie est incubée à 37°C pendant 24 heures. Pour quelques réactions, la lecture des résultats fait suite à l'addition de réactifs spécifiques.

Le résultat de la lecture des galeries est réalisé par un logiciel appelé *Apiweb*™, développé par Bio Mérieux (<https://apiweb.biomerieux.com/>).

3.2.3.2.2 Détermination de la sensibilité aux antibiotiques (L'antibiogramme)

Pour la réalisation de ce test, on a pris comme référence le document développé par le Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques, en collaboration avec l'Organisation Mondiale de la Santé, publié en 2011 et intitulé : « STANDARDISATION DE L'ANTIBIOGRAMME A L'ECHELLE NATIONALE (MEDECINE HUMAINE ET VETERINAIRE) ».

L'objectif de cette partie de notre travail est de tester la sensibilité de quelques souches isolées appartenant au genre *Staphylococcus sp.* vis-à-vis de quelques antibiotiques utilisés le plus souvent dans le traitement des mammites.

3.2.3.2.2.1 Technique de l'antibiogramme

L'antibiogramme permet de tester la sensibilité des bactéries vis-à-vis des antibiotiques. Il existe plusieurs techniques pour tester la sensibilité aux antibiotiques. Pour la réalisation de notre travail, on a choisi la technique de diffusion sur disques. La méthode utilisée est décrite ci-dessous :

a. Milieu pour antibiogramme

On a utilisé une gélose Mueller-Hinton coulée sur des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre.

b. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18-24 heures, on a prélevé quelques colonies bactériennes bien isolées pour la préparation de l'inoculum à 0,5 McFarland.

A l'aide d'une pipette Pasteur stérilisée, les colonies sont déchargées dans 5ml d'eau peptonée pour la préparation de la suspension bactérienne à 0,5 McFarland (soit 10^8 UFC/ml). L'inoculum est préparé à l'aide d'un spectrophotomètre, et la lecture est faite avec une absorbance réglée à 625nm pour une densité optique (D.O.) de 0,08 à 0,10.

c. Ensemencement

Dans la demi-heure qui suit la préparation de l'inoculum, à l'aide d'un écouvillon, on a étalé la suspension bactérienne sur la totalité de la boîte de Pétri en frottant et en tournant l'écouvillon qu'on a trempé dans la suspension bactérienne ; l'étalement est fait en stries rapprochées. Un deuxième étalement est fait de la même façon en tournant la boîte à 60°

d. Application des disques d'antibiotiques

Le choix des antibiotiques était dicté non seulement par les recommandations du Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (MoARD et *al.*, 2011), mais aussi par la disponibilité dans le marché de ces disques d'antibiotiques.

Les antibiotiques testés contre les *Staphylococcus sp.* sont cités dans le tableau ci-dessus.

Pour chaque souche bactérienne, 2 boîtes de Pétri ont été utilisées. La distribution des antibiotiques dans les deux boîtes est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 2: Liste des disques d'antibiotique déposés dans les 2 boîtes pour la réalisation de l'antibiogramme.

BOITE 1			BOITE 2		
Antibiotiques testés	Charge du disque	Abréviations de l'antibiotique	Antibiotiques testés	Charge du disque	Abréviations de l'antibiotique
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	SXT 25	Vancomycine	30 µg	VA 30
Gentamycine	10 µg	CN10	Chloramphenicol	30 µg	C 30
Streptomycine	10 µg	S 10	Amoxicilline+Acide clavulanique	20/10 µg	AUG 30
Pénicilline	10U	P10	Kanamycine	30 µg	K 30
Oxacilline	1 µg	OX 1	Erythromycine	30 µg	E 15
Tétracyclines	30 µg	TE 30			
Kanamycine	30 µg	K 30			

Avant la mise en incubation, les disques d'antibiotiques ont été pressés à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de leur application.

e. Lecture et interprétation des résultats

L'incubation est réalisée à 37°C, pendant 24 heures. A l'issue de cette période d'incubation, la lecture des résultats est faite en mesurant la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse. Les zones d'inhibition permettent de classer la souche en 3 catégories : **Résistante (R)**, **Intermédiaire (I)**, ou **Sensible (S)** ; en se référant au tableau suivant :

Tableau 3: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus sp.* (MoARD et al., 2011).

Antibiotiques testés		Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Triméthoprim+Sulfaméthoxazole	SXT 25	≤10	11-15	≥16
Gentamycine	CN10	≤12	13 - 14	≥15
Pénicilline	P10	≤28	-	≥29
Oxacilline (<i>S.aureus</i>)	OX 1	≤10	11-12	≥13
Oxacilline (SCN)	OX 1	≤17	-	≥18
Tétracyclines	TE 30	≤14	15-18	≥19
Kanamycine	K 30	≤13	14-17	≥18
Vancomycine	VA 30	-	-	≥15
Chloramphenicol	C 30	≤12	13-17	≥18
Amoxicilline+Acide clavulanique	AUG 30	≤19	-	≥20
Erythromycine	E 15	≤13	14-22	≥23

R : Résistante ; **I** : Intermédiaire ; **S** : ou Sensible.

3.2.3.2.3 Détermination de la sensibilité aux huiles essentielles (L'aromatogramme)

L'objectif de cette partie était de tester dans un premier temps la sensibilité des souches fongiques et des souches bactériennes multi-résistantes appartenant au genre *Staphylococcus sp.* aux 3 huiles essentielles. Le deuxième objectif de cette partie de l'étude était de déterminer les valeurs de la CMI et de la CMB des huiles essentielles testées.

Le présent travail s'est intéressé à l'étude de l'activité antimicrobienne de 3 huiles essentielles. Il s'agit de l'évaluation de l'activité antibactérienne et de l'activité antifongique de la cannelle

de Chine (*Cinnamomum aromaticum*), du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et de la menthe (*Mentha spicata*), vis-à-vis de dix (10) espèces bactériennes appartenant au genre *Staphylococcus sp.*, et de dix (10) levures isolées à partir de lait de vache présentant les signes de mammites subcliniques.

Les huiles essentielles nous ont été fournies par *Dr. Selles Si Mohamed Ammar*.

Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation à l'aide de l'appareil de condensation (*Clevenger*). Le rendement moyen du *Cinnamomum aromaticum* était de $1,46 \pm 0,05\%$ (volume / volume). Le rendement moyen du *Cinnamomum aromaticum* est de $1,46 \pm 0,05\%$ (volume / volume) (Selles *et al.*, 2019).

L'identification des composants des huiles essentielles a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse grâce à un chromatographe équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS). Les analyses de la composition chimique des deux huiles essentielles effectuées à la *Sarl Pyrenessences Analyse* (France) ont donné lieu à 116 composés soit environ 99,92 % de la composition totale pour *Mentha spicata* contre 89 composés soit environ 99,99% de la composition totale pour *Cinnamomum aromaticum*.

La composition quantitative de l'huile essentielle de *Mentha spicata* est représentée principalement par le carvone (63,95%), le limonène (5,85%), l'acétate de dihydrocarvyle (4,17%), le 1,8-cineole + β -phellandrene (3,75%), le trans-thuyanol (2,74%), le cisdihydrocarvone (1,68%), le β -caryophyllène (1,37%), le Terpinène-4-OL (1,23%), le borneol (1,11%) et l'acétate de cis-carvyle (1,07%). Alors que, celle de *Cinnamomum aromaticum* est dominée par le E- cinnamaldéhyde (94,67%) (Selles, 2019).

La sensibilité des souches aux huiles essentielles a été déterminée par la méthode de diffusion sur milieu solide. Des disques stériles ont été imprégnés par de l'huile essentielle pure (5 μ l) et placés à la surface de gélose nutritive coulée dans des boîtes de Pétri. Auparavant, un inoculum de 0,5 McFarland (soit 10^8 UFC/ml) était préparé à l'aide d'un spectrophotomètre et étalé à l'aide d'un écouvillon stérile sur une boîte de pétri contenant le milieu de culture Muller-Hinton.

Deux souches appartenant au genre *Staphylococcus sp.* : Une souche SCN (Staphylocoque à coagulase négative) et une autre souche SCP (Staphylocoque à coagulase positive) ont été choisie pour la réalisation de ce test.

L'incubation est réalisée à 37°C, pendant 24 heures. A l'issue de cette période d'incubation, la lecture des résultats est faite en mesurant la zone d'inhibition.

La sensibilité aux différents huiles essentielles est classée selon le diamètre de l'halot de la zone d'inhibition : insensible (-) si le diamètre de la zone d'inhibition est moins de 8mm ; sensible (+) avec des diamètres compris entre 9 et 14 mm ; très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19 mm ; et extrêmement sensible (+++) pour des diamètres plus de 20 mm (Ponce et *al.*, 2003). Le test de sensibilité aux huiles essentielles a été réalisé en triplicata.

3.2.3.2.3.1 Détermination de la CMI et de la CMB/CMF

Seules les huiles essentielles ayant présentées une zone d'inhibition de plus de 20 mm par la méthode de diffusion en milieu solide ont été retenues pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide/concentration minimale fongicide (CMB/CMF).

La CMI est définie comme étant la concentration la plus faible de la substance antimicrobienne qui inhibe la croissance des micro-organismes. La détermination des CMI des extraits de plantes vis-à-vis des souches étudiées est réalisée selon la technique de microtitration sur plaques à 96 puits (NCCLS, 1999).

Après 24 h de culture sur gélose nutritive à 37°C, les suspensions bactériennes ont été préparées dans 5 mL de solution saline à 0,85% et ajustées à 0,5 McFarland.

Pour les souches levuriformes, et à fin d'obtenir des cultures jeunes, la culture a été faite sur le milieu Sabouraud/Chloramphénicol à 27°C, pendant 48 h. La densité finale de l'inoculum de levure a été ajustée à 2,0 McFarland.

Une solution mère des huiles essentielles a été préparée en utilisant du Tween 20 dissous dans de l'eau distillée stérile (1/9, v/v), à partir de laquelle on a préparé des solutions finales par double dilution.

Des solutions primaires ont été préparées à partir de la solution mère par dilution en série en utilisant du Tween 20 dissous (10%) dans des tubes à essai stériles pour atteindre des

concentrations en huile essentielle de: (1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 et 1/320) . Les solutions finales des huiles essentielles ont été obtenues à partir de solutions primaires en ajoutant de manière aseptique 0,5 ml de la solution primaire préparée à 4,5 ml de bouillon Mueller-Hinton pour obtenir des concentrations finales de : 1/100, 1/200, 1/400, 1 / 800, 1/1600, 1/3200, v/v. Des volumes de 95 µl des solutions diluées finales ont été distribués dans les puits de la plaque de microtitration, et 5 µl des inocula préparés ont été ajoutés aux puits correspondants. Des témoins positifs de croissance (sans huile essentielle) et des témoins négatifs de stérilité (sans bactérie / champignons) ont été réalisés. La détermination de la CMI a été faite en triplicata.

A l'issue de l'incubation des plaques contenant les bactéries et les suspensions des huiles essentielles à 37 ° C pendant 24 h, 20 µl de chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium (TTC) à 0,5% ont été ajoutés à chaque puit. Les levures ont été incubées à 27 ° C pendant 48 h. La CMI a été enregistrée comme étant la plus faible concentration en huile essentielle pour laquelle aucune croissance n'a été visualisée.

Les valeurs de CMB et de CMF ont été déterminées à partir des puits sans croissance microbienne visible. Un volume de 10 µl a été transféré, à partir des puits correspondants, à la surface de boîtes contenant la gélose Mueller-Hinton, qui ont été incubées pendant 24 heures à 37 ° C. Pour les levures, un volume de 10 µl a été transféré à la surface de boîtes contenant du Sabouraud/chloramphénicol et incubées pendant 48 h à 27 ° C. La croissance microbienne a été observée, enregistrant la plus faible concentration en huile essentielle qui n'a pas montré de croissance bactérienne / fongique. Ces tests ont été réalisés en triplicata.

Les ratios CMB / CMI et CMF / CMI ont été utilisés pour déterminer la nature de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle. L'huile essentiel était considérée comme bactéricide (ou fongicide) si le rapport du CMB (ou CMF) au CMI ne dépassait pas la valeur 4. Avec un ratio supérieur à 4 et inférieur à 32, l'huile essentielle était considérée comme bactériostatique (ou fongistatique). La souche microbienne est considérée tolérante à l'huile essentiel si le rapport CMI / CMF est supérieur ou égal à 32 (Cutler et *al.*, 1994).

III. RESULTATS

Comme nous l'avons présenté dans la section précédente, les résultats de cette étude seront exposés en 2 parties. La première partie exposera les résultats du test CMT, l'analyse mycologique des prélèvements de lait et analysera enfin l'association entre les 3 facteurs de risque étudiés et la prévalence des mammites. La deuxième partie, détaillera les résultats de l'analyse microbiologique, les résultats de l'antibiogramme et en dernier les résultats de l'aromatogramme.

1. Partie 1

Une étude transversale a été menée au niveau de quelques élevages de la willaya de *Tiaret*.

Un ensemble de 166 vaches issues de 8 exploitations, nous étaient disponibles pour la réalisation de cette première partie de l'étude. La taille moyenne des troupeaux était de 24 ± 5 vaches en lactation et variait entre 18 et 35 vaches / élevage.

Les résultats bruts de cette première partie sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 4: Résultats bruts de la partie 1.

	Effectifs vaches	Prévalence mammite	BCS				UHS				TES				
			2	2,5	3	3,5	1	2	3	4	1	2	3	4	5
Elevage 1	24	0,29	7	0	2	0	1	10	8	5	17	32	31	2	0
Elevage 2	24	0,34	10	4	3	0	8	8	6	2	1	38	26	21	0
Elevage 3	23	0,41	4	10	9	0	21	3	0	0	2	31	41	10	0
Elevage 4	22	0,30	11	5	6	0	14	6	1	1	3	45	28	3	0
Elevage 5	22	0,30	9	4	8	0	11	7	3	0	12	50	20	2	0
Elevage 6	20	0,40	10	6	3	2	12	5	3	0	1	42	31	4	0
Elevage 7	18	0,38	6	8	4	1	0	5	8	5	1	29	37	4	0
Elevage 8	35	0,36	1	9	12	5	6	10	1	3	5	73	60	1	0

BCS: Body Condition Score; UHS: Udder Hygiene Score; TES: Teat-end Score.

1.1. Prévalence des mammites

Sur un total de 752 quartiers examinés, 261 quartiers ont présenté une réaction positive au test CMT, soit une proportion de 34,7%.

Pour les quartiers à CMT positif, 105 (40,3%) des quartiers ont présenté la note 1, 52 (19,2%) la note 2, et 104 (39,8%) la note 3 au test CMT. Les résultats de la distribution des quartiers de la mamelle selon le résultat du test CMT sont présentés dans la figure présentée ci-dessous :

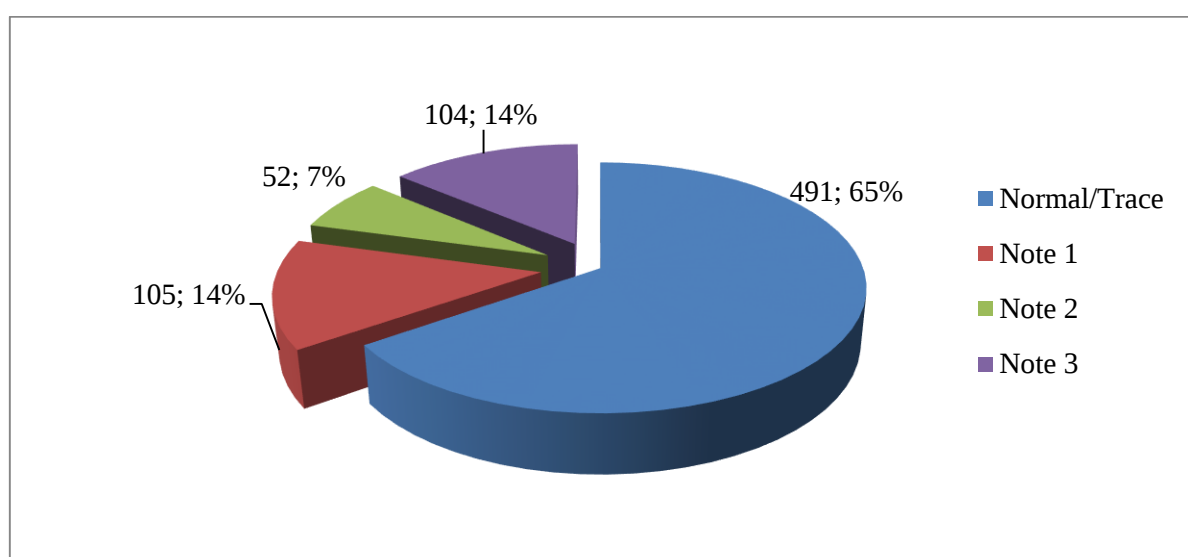


Figure 14: Résultats du test CMT (Partie 1).

1.2. Analyse mycologique des échantillons de lait

Le but de l'analyse mycologique des échantillons de lait était d'identifier les espèces fongiques impliquées dans la pathologie mammaire.

Seuls des échantillons de lait provenant de quartiers atteints de mammite subclinique ont été prélevés aseptiquement pour l'identification des agents mycosiques. Au total, sur les 752 quartiers examinés, 261 échantillons de lait ont été prélevés à partir de quartiers présentant une réaction positive au CMT.

Les résultats de l'analyse mycologique des prélèvements de lait sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5: Résultats de l'analyse mycologique (Partie 1).

Genre	Espèce	Fréquence	
		Nombre	%
<i>Candida sp.</i>	<i>Candida tropicalis</i>	3	20
	<i>Candida albicans</i>	2	13,33
		(5) ^a	(33,33) ^b
<i>Cryptococcus sp.</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>	2	13,33
	<i>Cryptococcus albidus</i>	1	6,67
		(3) ^a	(20) ^b
<i>Geotrichum sp.</i>	<i>Geotrichum capitatum</i>	2	13,33
		(2) ^a	(13,33) ^b
<i>Saccharomyces sp.</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	13,33
		(2) ^a	(13,33) ^b
<i>Penicillium sp.</i>	Non identifiée	2	13,33
		(2) ^a	(13,33) ^b
<i>Rhodotorula sp.</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>	1	6,67
		(1) ^a	(6,67) ^b
Total		15/261 (5,75%)	100

^a Le nombre d'isolats du même genre ; ^b Fréquence des isolats du même genre.

Sur les 261 prélèvements analysés, seul 15 échantillons se sont avérés positifs (culture mycosique positive) soit une proportion de 5,75%. Ce résultat correspond à la prévalence de la mammite fongique parmi le groupe de vaches à mammite subclinique.

Au total, des 15 espèces fongiques ayant été isolées, on a constaté une prédominance du genre *Candida sp.* (05/15) soit 33,33% des champignons isolés, et une prédominance de l'espèce *Candida tropicalis* (03/15, soit 20%). Les autres levures isolées appartenaient aux genres : *Cryptococcus sp.*, *Geotrichum sp.*, *Saccharomyces sp.*, et *Rhodotorula sp.*

Pour les moisissures, *Penicillium sp.* est la seule moisissure isolée avec une prévalence de 13,33% (voir tableau 5).

1.3. Facteurs de risque de la mammite fongique

1.3.1 Note de l'état corporel (BCS : Body Condition Score)

Pour évaluer l'effet du BCS sur la manifestation des cas de mammite, on a répartis les vaches sur la base de la note de l'état corporel en 2 groupes : un groupe de vaches avec un $BCS \geq 2,5$ (Groupe I), et un deuxième groupe comportant des vaches avec un $BCS < 2,5$ (Groupe II).

Seules les vaches ayant les quatre (4) quartiers de la mamelle fonctionnels ont été retenues pour l'analyse de l'influence de la note de l'état corporel sur la manifestation des mammites.

Tableau 6: Influence de l'état corporel sur la prévalence de la mammite.

	BCS (Body Condition Score)		
	BCS <2,5	BCS $\geq$ 2,5	Total
1- Vaches mammitesuses			
Oui	42	64	106
Non	16	37	53
Total	58	101	159
Proportion de vaches mammitesuses	72,40%	63,40%	
X^2		1,357	$p=0,244$
Odds Ratio (OR)	1,518		
IC 95%	0,751	3,068	
2- Quartiers mammitesux			
Oui	40	121	161
Non	192	283	475
Total	232	404	636
Proportion des quartiers mammitesux	17,20%	30,00%	
X^2		12,59	$p=0,0003$
Odds Ratio (OR)	0,487		
IC 95%	0,326	0,728	

Au regard de la proportion des vaches mammitesuses, la différence entre les vaches du groupe I ($BCS \geq 2,5$) et celle du groupe II ($BCS < 2,5$), les résultats de l'analyse statistique ont montré que les vaches avec un $BCS < 2,5$ présentent risque plus élevé de développer des mammites (au niveau d'au moins un seul quartier de la mamelle) par rapport aux vaches présentant un bon état d'embonpoint ($OR=1,518$).

Au contraire de la prévalence des vaches mammites en fonction de leur état d'embonpoint, les quartiers des vaches avec un $BCS \geq 2,5$ présentent le même risque de développer une mammite que les vaches au $BCS < 2,5$ ($OR=0,478$).

Les résultats de l'analyse statistique de l'association entre la mammite fongique et la note de l'état corporel ont indiqué un effet non significatif de ce facteur de risque sur la manifestation des mammites fongiques parmi le groupe de vaches à CMT+ ($OR= 0,72$).

1.3.2 Etat d'hygiène de la mamelle (UHS : Udder Hygiene Score)

L'analyse de l'indice de propreté de la mamelle a indiqué un pourcentage de 73% pour les mamelles «propres » et 27% pour les mamelles sales (Figure 8).

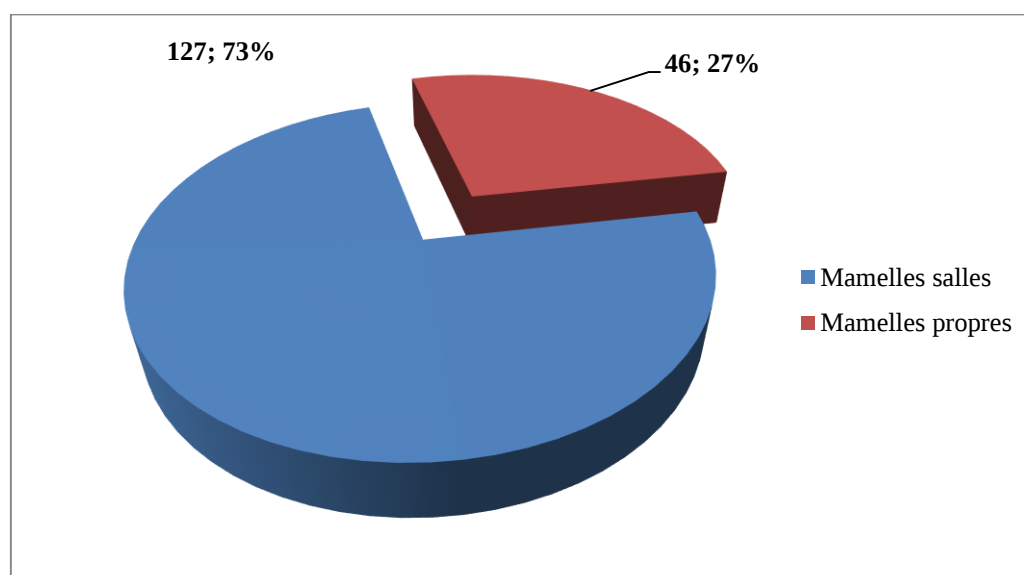


Figure 15: Proportions de mamelles "propres" et de mamelles "sales".

Avec une moyenne générale de $1,94 \pm 0,98$, la répartition des vaches en fonction de la note de l'indice de propreté de la mamelle nous a permis de considérer la prédominance de la note 1 , avec un taux de 42,2%, suivie par la note 2, la note 3 et la note 4, avec des taux de 31,1%, 17,3% et 09,2%, respectivement.

Tableau 7: Influence de l'indice de propreté de la mamelle.

Nombre de quartiers mammitieux	Note de l'état d'hygiène de la mamelle				TOTAL (%)
	1	2	3	4	
0	23	28	11	6	68 (39,3)
1	19	11	8	5	43 (24,9)
2	12	6	5	4	27 (15,6)
3	9	5	3	0	17 (9,8)
4	10	4	3	1	18 (10,4)
TOTAL (%)	73 (42,2)	54 (31,2)	30 (17,3)	16 (9,2)	173 (100)

OR=0,874 (%95 CI, 0,436-1,752) ($X^2 = 0,007$; $p = 0,703$).

En analysant les résultats de la distribution des quartiers présentant une mammite subclinique en fonction de l'état d'hygiène de la mamelle, on a constaté l'absence d'association significative entre les mammites subcliniques et la note de l'état d'hygiène de la mamelle (OR=0,874) (Tableau 7).

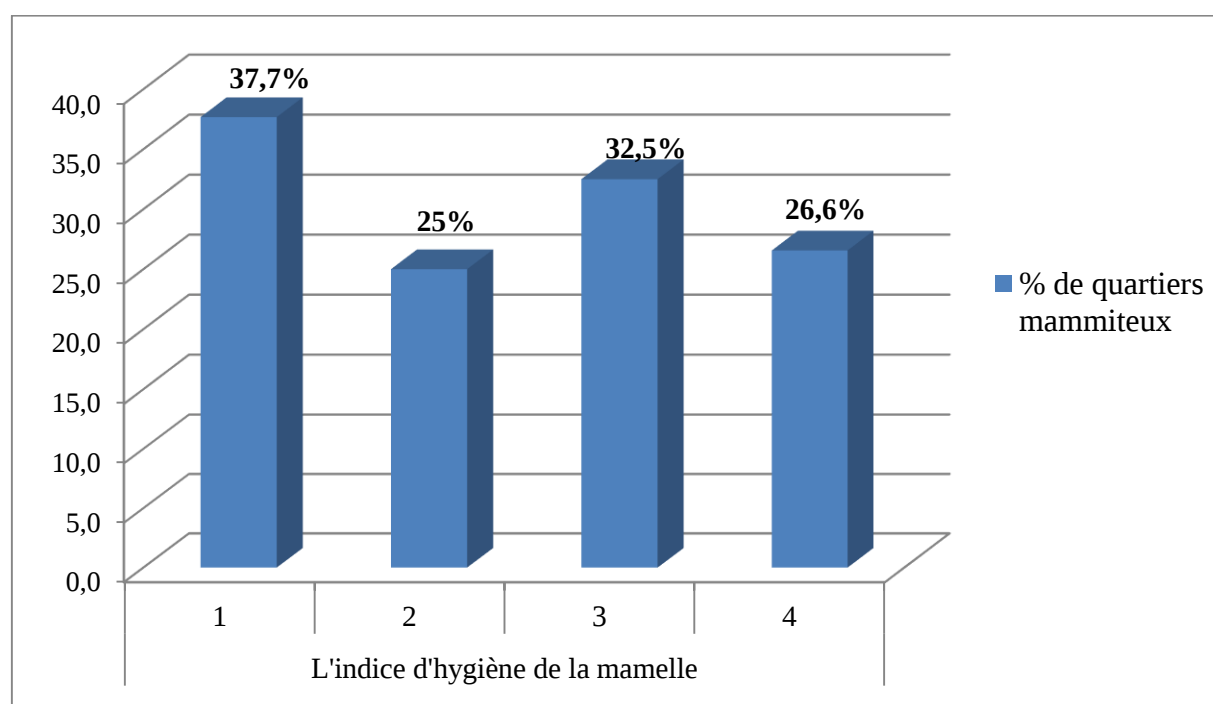


Figure 16: Répartition de la prévalence des quartiers atteints de mammite subclinique en fonction de l'indice de propreté de la mamelle.

Les résultats de l'analyse statistique de l'association entre la mammite fongique et l'indice de propreté de la mamelle ont indiqué un effet non significatif de ce facteur de risque sur la manifestation des mammites fongiques parmi le groupe de vaches à CMT+ (OR= 0,56).

1.3.3 Note lésionnelle de l'orifice du trayon (TEC : Teat-end Condition)

Les résultats détaillés de la distribution des notes lésionnelles de l'orifice du trayon en fonction des notes du CMT sont présentés sur le tableau et la figure ci-dessous :

Tableau 8: Distribution des notes lésionnelles des trayons en fonction du test CMT.

Note lésionnelle de l'orifice du trayon (catégorie)	California Mastitis Test (CMT)				TOTAL
	Normal/Trace	Note 1	Note 2	Note 3	
Pas de lésions (1)	22	6	6	8	42
Anneau lisse / légèrement rugueux (2)	222	49	23	46	340
Orifice rugueux (3)	190	30	19	35	274
Très rugueux / sévèrement hyperkératosé (4)	24	9	4	10	47
Lésions ouvertes ou cicatrices (5)	0	0	0	0	0
TOTAL	458	94	52	99	703

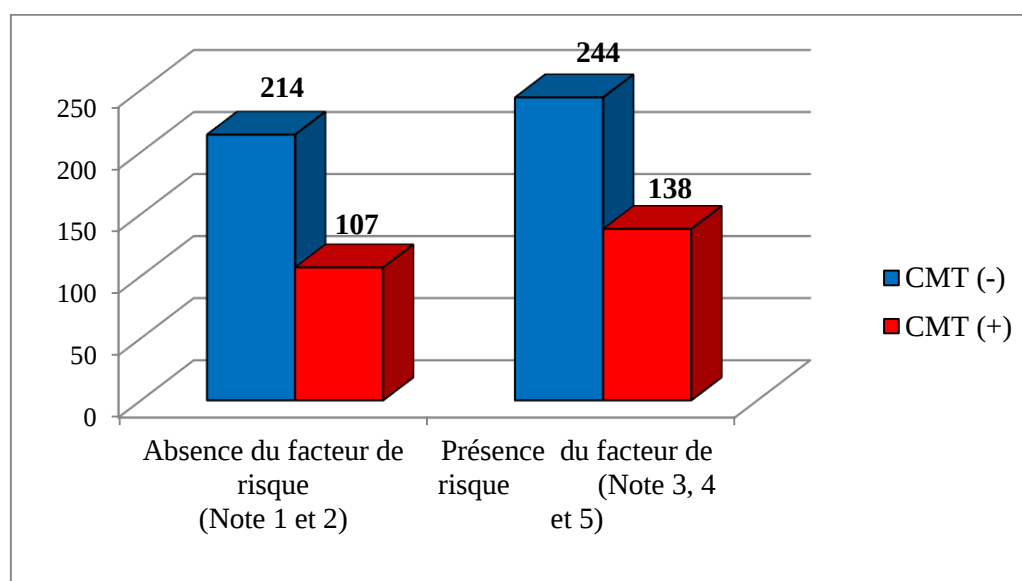


Figure 17: Distribution des notes lésionnelles des trayons en fonction du test CMT.

Tableau 9: Influence de la note lésionnelle de l'orifice du trayon sur la prévalence de la mammite.

Lésions de l’orifice du trayon			
	Non (Notes : 1 et 2)	Oui (Notes : 3, 4 et 5)	Total
1- Mammite			
CMT (+)	107	138	245
CMT (-)	244	214	458
Total	351	352	703
Proportion	30,5%	39,2%	34,9%
X^2		5,886	$p=0,015$
Odds Ratio (OR)		1,471	
IC 95%		1,076-2,009	
2- Mammite mycosique			
Oui	8	7	15
Non	134	112	246
Total	142	119	261
Proportion	5,6%	5,9%	5,7%
X^2		0,007	$P=0,931$
Odds Ratio (OR)		1,047	
IC 95%		0,368-2,977	

L'analyse statistique des données sur l'influence de la note lésionnelle de l'orifice du trayon sur la prévalence de la mammite subclinique mesurée par le test CMT, a permis de mettre en évidence une association significative entre l'état de l'orifice du trayon et la mammite subclinique (Rapport de cote = 1,471).

Au contraire des résultats sur l'association de la prévalence des mammites subcliniques avec les lésions de l'extrémité du trayon, l'analyse des données de l'association entre ce facteur de risque et la mammite fongique n'a indiqué aucune association entre l'état de l'orifice du trayon et la prévalence de la mammite mycosique parmi le groupe de vaches souffrant de mammite subclinique (Rapport de cote : OR = 1,047).

2. PARTIE 2

2.1. Prévalence et étiologie des mammites

Les résultats de cette partie de l'étude, menée au niveau de 14 exploitations laitières dans la région de Tiaret (différentes de élevages suivis dans la première partie de cette étude), ont permis de donner une fois de plus une information sur la prévalence de la pathologie mammaire d'origine bactérienne et mycosique.

Tableau 10: Prévalence des cas de mammites, moyenne du BCS et moyenne de l'UHS par élevage (Partie 2).

	Type de traite	N° de vaches	N° de vaches atteintes	% de vaches atteintes	N° de quartiers atteints	Prévalence des cas de mammite	Moyenne BCS des vaches atteintes	Moyenne UHS des vaches atteintes
Élevage 1	Mécanique	12	3	25,00	3	0,063	3,67±0,76	1,5±0,5
Élevage 2	Mécanique	9	5	55,56	6	0,167	ND	0,4±0,2
Élevage 3	Mécanique	19	12	63,16	12	0,158	ND	0,96±0,33
Élevage 4	Manuelle	12	6	50,00	7	0,146	ND	ND
Élevage 5	Mécanique	9	4	44,44	9	0,250	ND	0,63±0,25
Élevage 6	Mécanique	13	10	76,92	17	0,327	3,85±0,71	0,55±0,44
Élevage 7	Mécanique	17	7	41,18	7	0,103	4,2±0,84	0,64±0,56
Élevage 8	Mécanique	9	5	55,56	5	0,139	ND	1±0,61
Élevage 9	Mécanique	19	4	21,05	7	0,092	ND	0,19±0,37
Élevage 10	Mécanique (Salle de traite)	15	4	26,67	8	0,133	ND	0,25±0,29
Élevage 11	Manuelle	17	4	23,53	4	0,059	ND	0,75±0,29
Élevage 12	Mécanique	46	24	52,17	29	0,158	ND	0,22±0,29
Élevage 13	Mécanique	19	12	63,16	13	0,171	ND	0,95±0,5
Élevage 14	Mécanique	12	8	66,67	9	0,188	ND	0,71±0,81

ND : Non déterminée.

Sur un total de 794 quartiers appartenant à 228 vaches examinés, 136 quartiers se sont avérés mammiteux. Parmi ce dernier groupe de quartiers mammiteux, 15 quartiers ont présentés une mammite clinique, soit une proportion de 2% de la totalité des quartiers examinés, et 121 quartiers ont présenté une réaction positive au test *CMT*, soit une proportion de mammite subclinique de 15% (Figure 10).

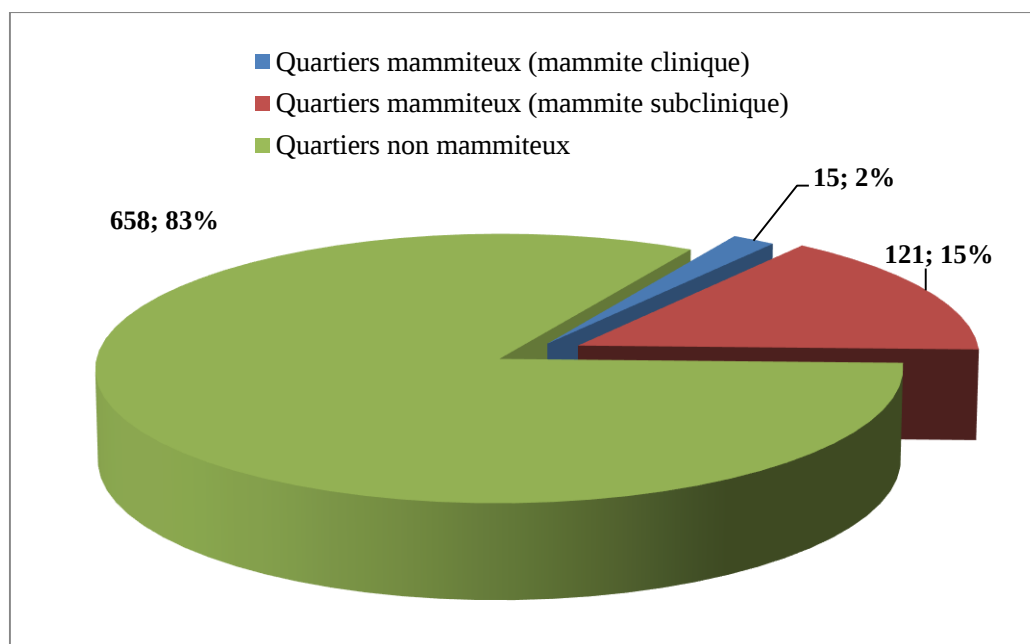


Figure 18: Prévalence des cas de mammites au niveau des élevages suivis (Partie 2).

Parmi les 136 cultures positives pour les examens bactériologique et mycologique, 97 échantillons (69%) ont permis l'isolement d'un seul germe et 9 échantillons (7%) deux germes. Alors que 19 prélèvements (14%) se sont révélés contaminés (présence de plus de 2 germes), et 14 prélèvements (10%) ont donné une culture négatif vis-à-vis des germes recherchés dans cette étude.

Le tableau ci-dessous présente les différents genres et espèces bactériennes et fongiques isolées à partir des 121 prélèvements de lait analysés.

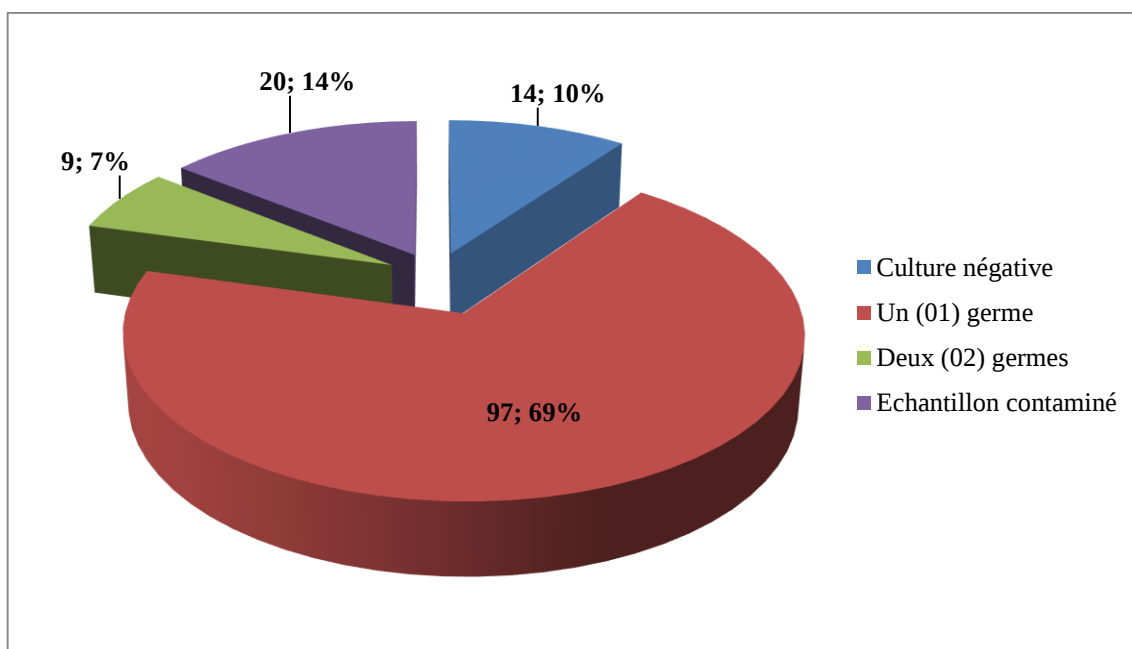


Figure 19: Résultats de l'analyse bactériologique (Partie 2).

Pour l'examen bactériologique, le tableau suivant montre une prédominance des *Staphylocoques à coagulase négative* (42,4%), suivi par *Staphylococcus aureus* (35,4%), les *entérobactéries* (18,75%), *Streptococcus sp.*(2%), et en fin *Micrococcus sp.* avec une prévalence de 1%

Les résultats obtenus montrent une prédominance des germes à réservoir environnemental (*Staphylocoques à coagulase négative*, *Micrococcus sp.* et *Entérobactéries*) (62,6%) par rapport aux germes à réservoir mammaire (*Staphylococcus aureus* et *Streptococcus sp.*) (37,4%).

Tableau 11: Bactéries isolées à partir de prélèvements de lait de mammites (Partie 2).

Catégories/Genres bactériens	Espèces	Nombre	%
<i>Staphylocoques à coagulase négative</i>		42	42,4
	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	18	18
	<i>Staphylococcus xylosus</i>	5	5
	<i>Staphylococcus hominis</i>	5	5
	<i>Staphylococcus hyicus</i>	4	4
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	2
	<i>Staphylococcus capitis</i>	2	2
	<i>Staphylococcus intermedius</i>	2	2
	<i>Staphylococcus auricularis</i>	2	2
	<i>Staphylococcus lentus</i>	2	2
<i>Staphylocoques à coagulase positive</i>		34	35,4
	<i>Staphylococcus aureus</i>	34	35,4
<i>Micrococcus sp.</i>		1	1
	<i>Micrococcus sp.</i>	1	1
<i>Streptococcus sp.</i>		2	2
	<i>Streptococcus sp</i>	2	2
<i>Entérobactéries</i>		18	18,75
	<i>Escherichia coli</i>	9	9
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	3
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1
	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	1	1
	<i>Raoultella terrigena</i>	1	1
	<i>Pantoea sp.</i>	1	1
	<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1
	<i>Enterobacter aerogénès</i>	1	1

Sur les 136 prélèvements analysés, 18 échantillons se sont avérés positifs (culture mycosique positive) soit une proportion de 13,23%. Ce résultat correspond à la prévalence de la mammites fongique parmi le groupe de vaches mammites.

Au total des 18 espèces fongiques ayant été isolées, on a constaté une prédominance du genre *Candida sp.* (08/18), soit 44,44% des champignons isolés, et une prédominance de l'espèce

Cryptococcus laurentii (05/18, soit près de 27,75%). Les autres levures isolées appartenaient aux genres : *Cryptococcus sp.*, *Rhodotorula sp.* et *Trichosporon sp.*

Pour les moisissures, aucun champignon filamenteux n'a été isolé au cours de cette deuxième étape.

Tableau 12: Agents mycosiques isolés à partir de prélèvements de lait de mammite (Partie 2).

	Espèces	Nombre	%
<i>Candida sp.</i>		8	44,44
	<i>Candida albicans</i>	1	5,55
	<i>Candida famata</i>	1	5,55
	<i>Candida guilliermondii</i>	1	5,55
	<i>Candida lambica</i>	1	5,55
	<i>Candida tropicalis</i>	3	16,65
	<i>Candida zeylanoides</i>	1	5,55
<i>Cryptococcus sp.</i>		7	38,88
	<i>Cryptococcus albidus</i>	2	11,1
	<i>Cryptococcus laurentii</i>	5	27,75
<i>Rhodotorula sp.</i>		2	11,1
	<i>Rhodotorula glutinis</i>	2	11,1
<i>Trichosporon sp.</i>		1	5,55
	<i>Trichosporon inkin</i>	1	5,55

2.2 Résultats de l'antibiogramme

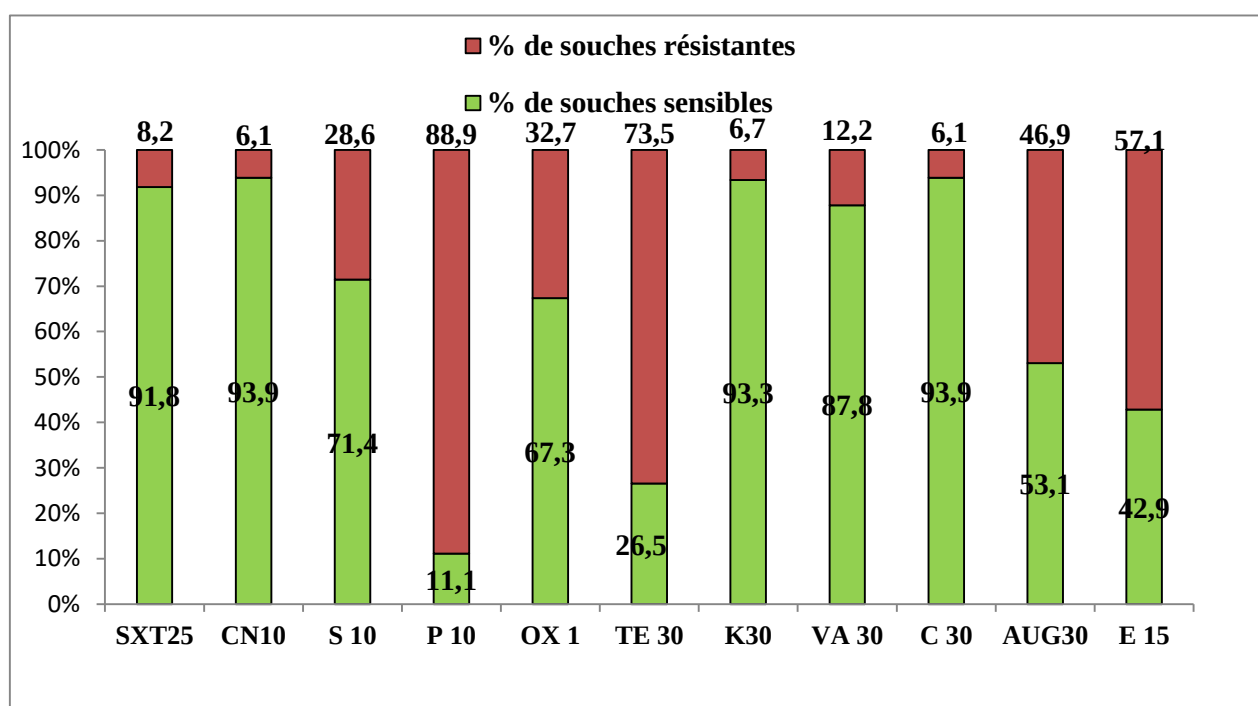
Durant cette étape, nous avons procédé au test de la sensibilité de 49 souches isolées à partir des prélèvements de lait, appartenant au genre *Staphylococcus sp.* (*Staphylocoques à coagulase négative* et *Staphylocoques à coagulase positive*), vis-à-vis de quelques antibiotiques.

Les résultats du test de sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des antibiotiques sont présentés dans le tableau et la figure suivants :

Tableau 13: Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des antibiotiques.

	Seuils de sensibilité vis-à-vis des antibiotiques	Moyenne $\pm$ écart type (Zone d'inhibition)	Nombre de souches testées	Nombre de souches sensibles	% de souches sensibles	Nombre de souches résistantes	% de souches résistantes
SXT25	16	24,3 $\pm$ 6,7	49	45	91,8	4	8,2
CN10	15	23,4 $\pm$ 3,5	49	46	93,9	3	6,1
S 10		19 $\pm$ 4,8	49	35	71,4	14	28,6
P 10	29	20,9 $\pm$ 12,6	45	5	11,1	40	88,9
OX 1		15,6 $\pm$ 7	49	33	67,3	16	32,7
TE 30	19	14,2 $\pm$ 11,6	49	13	26,5	36	73,5
K30	18	24,7 $\pm$ 5	30	28	93,3	2	6,7
VA 30	15	18,6 $\pm$ 5,7	41	36	87,8	5	12,2
C 30	18	30,2 $\pm$ 5,4	49	46	93,9	3	6,1
AUG30	20	22,3 $\pm$ 10,3	49	26	53,1	23	46,9
E 15	23	17,4 $\pm$ 11	49	21	42,9	28	57,1

Antibiotiques: (SXT25: Triméthoprim + Sulfaméthoxazole; CN10: Gentamycine; S10: Streptomycine; P10: Pénicilline; OX1: Oxacilline; TE30: Tétracycline; K30: Kanamycine; VA30: Vancomycine; C30: Chloramphénicol; AM30: Ampicilline; AUG30: Amoxicilline + Acide clavulanique; E15: Erythromycine.



Antibiotiques: (SXT25: Triméthoprim+Sulfaméthoxazole; CN10: Gentamycine; S10: Streptomycine; P10: Penicilline; OX1: Oxacilline; TE30: Tétracycline; K30: Kanamycine; VA30: Vancomycine; C30: Chloramphénicol; AUG30: Amoxicilline+Acide clavulanique; E15: Erythromycine; KF30: Cephalotine).

Figure 20: Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des antibiotiques.

Le test de sensibilité des souches isolées vis-à-vis aux antibiotiques choisis a montré un profil très hétérogène.

Pour la tétracycline (TE30), 73,5% des souches testés se sont avérés résistantes à cet antibiotique. Pour l'érythromycine et l'amoxicilline additionné d'acide clavulanique, 57,1% et 46,9% des souches ont présenté une zone d'inhibition supérieure aux limites de sensibilité, respectivement.

Les souches bactériennes testées ont montré une sensibilité intermédiaire vis-à-vis de l'Oxacilline (OX1) et la Streptomycine (S10) ; alors que ces souches testées ont accusé une sensibilité élevée vis-à-vis aux antibiotiques suivants : le Triméthoprim + Sulfaméthoxazole (SXT25), la Kanamycine(K30), la Gentamycine (CN10) et le Chloramphénicol (C30).

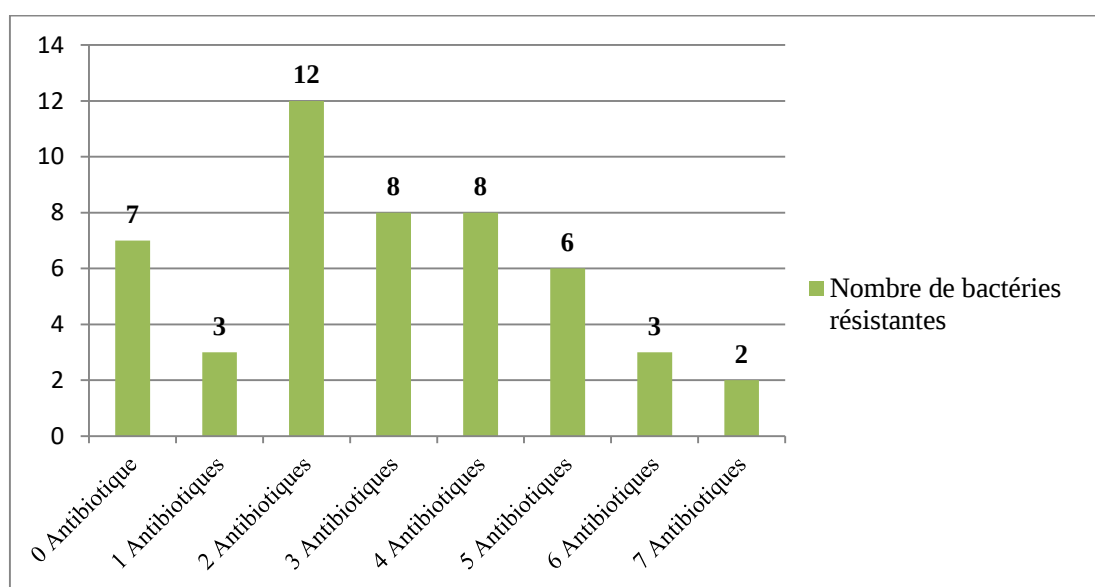


Figure 21: Distribution des bactéries selon leurs profils de résistance aux différents antibiotiques.

Prenant en considération le nombre d'antibiotiques n'ayant pas d'effet sur les bactéries isolées, 7/49 (14,28%) des souches ont présenté une sensibilité à tous les antibiotiques utilisés, 3/49 (6,12%) étaient résistants à 1 seul antibiotique, contre 12/49 (24,48%) pour 2 antibiotiques et 8/49 (16,32%) pour 3 antibiotiques.

Les souches multirésistantes, présentant une résistance à plus de 3 antibiotiques représentent 19/49 (38,77%) souches testées ; avec 8/49 (16,32%) ayant accusées une résistance contre 4 antibiotiques. Cette même proportion était enregistrée pour 5 antibiotiques. Alors que les

souches avec une résistance contre 6 et 7 antibiotiques étaient de 3/49 (6,12%) et 2 /49 (4,08%) respectivement.

2.3 Résultats de l'aromatogramme

2.3.1 Méthode de diffusion sur disque

Les résultats de la méthode de diffusion sur disque ont montré que les huiles essentielles de la cannelle de chine et du clou de girofle possèdent une activité antibactérienne et une activité antifongique considérables vis-à-vis des bactéries et des levures testées. Cependant, l'extrait de menthe a présenté une sensibilité moindre vis-à-vis des souches bactériennes testées.

En effet, toutes les souches pathogènes testées ont montré une sensibilité extrême vis-à-vis de la cannelle de Chine.

A la différence de *Staphylococcus aureus*, ayant exhibé une sensibilité extrême vis-à-vis de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*, *Staphylococcus chromogenes* a présenté une sensibilité moindre. Tandis que toutes les souches testées ont exhibées une sensibilité faible vis-à-vis de l'huile extraite de la menthe (Tableau 14).

Tableau 14: Moyennes des zones d'inhibition (mm) des 3 huiles essentielles.

Les souches testées	Les zones d'inhibitions (moyenne± écart type)		
	<i>Cinnamomum aromaticum</i>	<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Mentha spicata</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	52,3±2,1 (+++)	20,7±0,6 (+++)	11,3±0,6 (+)
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	48,3±1,5 (+++)	18,3±0,6 (++)	13,7±1,2 (+)
<i>Candida albicans</i>	76±5,3 (+++)	40,7±3,1 (+++)	ND*
<i>Cryptococcus laurentii</i>	79±7,9 (+++)	38,7±4,2 (+++)	ND*

(+) : sensible (+) ; (++) : très sensible ; (+++) : extrêmement sensible (+++) ; ND : non déterminée.

Les diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Cinnamomum aromaticum* étaient de 48,3 mm pour *Staphylococcus aureus* et de 52,3 mm pour *Staphylococcus chromogenes*, tandis que les zones d'inhibition de cette huile vis-à-vis des levures étaient plus larges avec des zones d'inhibition de 76 mm pour *Candida albicans* et 79 mm pour *Cryptococcus laurentii*, respectivement.

Les souches fongiques testées ont montré une sensibilité extrême vis-à-vis de l'huile essentielle du clou de girofle avec des diamètres d'inhibition de 40,7 mm pour *Candida albicans* et 38,7 mm pour *Cryptococcus laurentii*. Selon ces résultats préliminaires, cette huile essentielle possède une activité antifongique plus importante que l'activité antibactérienne exhibée vis-à-vis des souches bactériennes testées, ayant présentées des zones d'inhibition de 20,7 mm pour *Staphylococcus aureus*, et 18,3 mm pour *Staphylococcus chromogenes*.

Enfin, *Mentha spicata* a présenté la plus faible activité antimicrobienne, en comparaison aux autres huiles essentielles testées, avec des zones d'inhibition de 11,3 mm pour *Staphylococcus aureus* et de 13,7 mm pour *Staphylococcus chromogenes*, respectivement.

2.3.2 Valeurs CMI et CMB/CMF

Dans la présente étude, l'huile essentielle de la cannelle de Chine (*Cinnamomum aromaticum*) a montré une activité bactériostatique et bactéricide aux concentrations testées contre les souches pathogènes de *Staphylococcus sp.* Tous les isolats de *Staphylococcus* ont présentés la même CMI. Une concentration de 1/3200 v/v (0,3125 µl/ml) était suffisante pour inhiber la croissance des staphylocoques à coagulase-positive et des staphylocoques à coagulase-négative. Les valeurs de la CMB variaient entre 1/400 v/v (2,5 µl/ml) et 1/100 v/v (10 µl/ml).

L'huile essentielle du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) a présenté une CMI très hétérogène vis-à-vis des souches bactériennes testées. Les valeurs de CMI variaient entre 1/200 v/v (5 µl/ml) et 1/800 v/v (1,25 µl/ml) ; et les valeurs de CMB variaient entre 1/400 v/v (2,5 µl/ml) et >1/100 v/v (>10 µl/ml) pour certaines souches bactériennes.

Au regard du rapport CMB/CMI, l'huile essentielle de la cannelle de Chine a présenté une activité bactéricide vis-à-vis de 7 souches bactériennes, alors que cette huile est qualifiée comme étant bactériostatique vis-à-vis des 3 souches restantes. Le clou de girofle semblent être plus bactéricides que bactériostatiques, vue que cette huile a présenté une activité bactéricide vis-à-vis de 7 souches bactériennes sur les 10 souches testées.

Tableau 15: Activité antibactérienne des huiles essentielles (CMI, CMB, CMB/CMI).

	Antibiotiques											Huile essentielle <i>Cinnamomum aromaticum</i>			Huile essentielle <i>Syzygium aromaticum</i>		
	C30	E15	CN	AUG	K30	OX1	P10	S10	SXT	VA	TE30	CMI (%, v/v)	CMB (%, v/v)	CMB/CMI	CMI (%, v/v)	CMB (%, v/v)	CMB/CMI
<i>Staphylococcus aureus</i>	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	0,0625	0,25	4	0,5	1	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	R	0,0625	0,25	4	0,25	1	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	0,0625	1	16	0,25	>1	>4
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	R	S	R	S	R	R	S	S	S	R	0,0625	0,25	4	0,25	0,5	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	0,0625	0,5	8	0,25	1	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	0,0625	0,25	4	0,25	0,5	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	0,0625	0,25	4	0,125	0,25	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0,0625	0,25	4	0,125	1	8
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	S	I	S	R	S	R	R	S	S	I	R	0,0625	1	16	0,25	>1	>4
<i>Staphylococcus xylosus</i>	S	R	S	R	S	R	R	S	S	S	R	0,0625	0,125	2	0,125	0,25	2

R : Résistant ; S : Sensible ; I : Intermédiaire ; CMI : Concentration minimale inhibitrice ; CMB : Concentration minimale bactéricide.

Tableau 16: Activité antifongique des huiles essentielles (CMI, CMF, CMF/CMI).

Souches fongiques	<i>Cinnamomum aromaticum</i>			<i>Syzygium aromaticum</i>		
	CMI (%)	CMF (%)	CMF/CMI	CMI (%)	CMF(%)	CMF/CMI
<i>Cryptococcus albidus</i>	0,0625	0,25	4	0,125	>1	>4
<i>Candida lambica</i>	0,125	0,25	2	0,125	0,5	4
<i>Cryptococcus laurentii</i>	0,0625	0,125	2	0,25	0,25	1
<i>Candida zeylanoides</i>	0,0625	0,25	4	0,125	>1	>4
<i>Cryptococcus laurentii</i>	0,0625	0,25	4	0,0625	1	16
<i>Rhodotorula glutinis</i>	0,0625	0,125	2	0,125	0,5	4
<i>Cryptococcus laurentii</i>	0,0625	0,125	2	0,125	0,25	2
<i>Candida tropicalis</i>	0,125	0,25	2	0,125	1	8
<i>Cryptococcus laurentii</i>	<0,0312	0,0625	<2	0,25	1	4
<i>Rhodotorula glutinis</i>	0,0625	0,25	4	0,0625	1	16

Les valeurs de la CMI de l'huile essentielle de la cannelle de Chine variaient entre une concentration <1/ 3200 v/v (3,215 µl/ml) et 1/800 v/v (1,25 µl/ml) pour les souches fongiques ; et les valeurs de CMF variaient entre 1/1600 v/v (0,625 µl/ml) et 1/400 v/v (2,5 µl/ml) pour certaines souches fongiques.

Concernant les valeurs CMI/CMF, le clou de girofle a présenté une activité antifongique inférieure à celle obtenue avec l'huile essentielle de la cannelle. Cette activité s'est avérée fongicide vis-à-vis de 5 souches seulement, alors que l'huile essentielle de la cannelle exhibait une activité fongicide vis-à-vis de toutes les souches testées.

IV. DISCUSSION

Le présent travail décrit, dans un premier temps, l'influence des facteurs dits : « facteurs de risques » sur la prévalence de la mammite mycosique, au niveau de plusieurs exploitations laitières situées dans la région de Tiaret. Dans un deuxième temps et suite à l'analyse des résultats de la première partie de ce travail, il a été décidé d'élargir cette étude afin d'inclure dans la recherche non seulement les agents mycosiques responsables de mammites fongiques mais aussi les agents bactériens à l'origine des infections subcliniques de la glande mammaire.

Enfin, l'analyse des résultats de cette deuxième partie de l'étude ainsi que les résultats de l'aromatogramme nous ont permis de proposer un traitement alternatif à base d'huiles essentielles qui pourrait être utilisé à titre préventif ou curatif afin d'éviter la manifestation de mammites fongiques, secondaires au traitement antibiotique des mammites bactériennes à *Staphylococcus sp.*

1 Partie 1

1.1 Prévalence des mammites

Indépendamment de l'effet des différents facteurs de risque, **la prévalence de la mammite fongique** enregistrée parmi le groupe de vaches à CMT positif était de 5,75%. D'une façon générale, il a été démontré que l'incidence de la mammite mycosique est généralement faible dans les troupeaux laitiers mais peut se produire à de grandes proportions en cas d'épizootie de mammite fongique (Krukowski et *al.*, 2000).

La prévalence enregistrée dans ce présent travail est analogue à celle rapportée par Kirk et Bartlett (1986), qui avaient rapporté une prévalence de 2 à 7%. Dans une étude menée au niveau de plusieurs exploitations grecques, une prévalence de 6,9% était enregistrée par Bourtzis-Hatzopoulou et *al.*, (2003). En outre, dans une autre étude réalisée par Ksouri et *al.*, (2015), dans deux régions du nord-est de l'Algérie, les agents fongiques étaient isolés à partir d'échantillons de lait prélevés sur des glandes mammaires de vaches saines et d'autres présentant de signes de mammite subclinique ou clinique, avec les prévalences de 12,50%, 5,88% et 15,75%, respectivement. Les mêmes résultats ont été enregistrés par Segundo-Zaragoza et *al.*, (2011), avec des prévalences de 23,39%, 9,92% et 44,32% pour les échantillons de lait prélevés sur des glandes mammaires de vaches saines et d'autres présentant de signes de mammite subclinique ou clinique, respectivement.

En effet, la faible prévalence de la mammite mycosique parmi le groupe de vaches à CMT positif, donc présentant les signes de mammite subclinique pourrait s'expliquer en partie par le fait qu'il est fréquent de trouver au niveau de ces glandes mammaires un plus grand nombre de bactéries en compétition avec les agents fongiques pour les substrats nutritifs.

En plus, certains métabolites bactériens sont considérés comme antagonistes aux levures, limitant ainsi leur développement (Moretti et *al.*, 1998). Cette condition explique en partie l'émergence de mammites fongiques secondaires consécutives au traitement curatif ou préventif des mammites bactériennes (Baumgartner et *al.*, 2008 ; da COSTA et *al.*, 2012).

Ces dernières années, une importante augmentation du nombre des infections de la glande mamelle causées par *Candida sp.* et d'autres levures ont été signalées dans divers pays (Santos et Marin, 2005 ; Krukowski et *al.*, 2006 ; Suhyla et Seyhan, 2010 ; Segundo-Zaragoza et *al.*, 2011).

Dans notre étude, on a enregistré la prédominance du genre *Candida sp.* ; *Candida tropicalis* étant l'espèce la plus isolée (20%), suivie par *Candida albicans* (13,33%). *Candida tropicalis* est considéré comme l'espèce prédominante des cas de mammite fongique en Grèce (Bourtzi-Hatzopoulou et *al.*, 2003). La prédominance de *Candida sp.* (33,33%) est en totale concordance avec plusieurs enquêtes épidémiologiques réalisées dans divers pays (Spanamberg et *al.*, 2008 ; Zhou et *al.*, 2013 ; Ksouri et *al.*, 2015). En effet, dans une enquête menée par Segundo-Zaragoza et *al.*, (2011), toutes les levures isolées à partir des échantillons de lait appartenaient au genre *Candida sp.* ; De même, selon Chengappa et *al.*, (1984), la plupart des espèces isolées à partir de lait de vache appartiennent au genre *Candida sp.*

Les espèces du genre *Candida sp.* sont présentes dans l'environnement animal et comme agent commensal du tube digestif et des voies urogénitales. Néanmoins, *Candida albicans* est couramment isolé des voies naturelles plutôt que de l'environnement de l'animal, et est communément considéré comme endosaprophyte (Quinn et *al.*, 2011).

À l'exception de *Cryptococcus neoformans*, qui est considérée comme l'espèce la plus pathogène des mammites mycosiques (Spanamberg et *al.*, 2008) et dont les fientes de pigeons représentent une source d'infection, toutes les autres espèces isolées sont opportunistes. Elles sont généralement considérées comme une flore normale du sol et peuvent coloniser la peau de la mamelle (Quinn et *al.*, 2011).

De nombreuses études ont rapporté l'isolement de *Geotrichum capitatum*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Rhodotorula rubra* à partir d'échantillons de lait de vache (Costa et al., 1993). *Geotrichum capitatum* est le plus souvent isolée des quartiers atteints de mammite clinique plutôt que de mammite subclinique (Aalbaek et al., 1994). Cependant, *Saccharomyces cerevisiae* est isolée à partir de quartiers atteints de mammite clinique et subclinique à des taux similaires (Wawron et al., 2011). Ces derniers ont démontré que *Saccharomyces cerevisiae* possède une activité hydrolytique élevée qui est considérée comme caractéristique de l'infection mammaire. Pour *Rhodotorula rubra*, Quinn et al., (2011) considère cette levure comme saprophyte mais son rôle pathogène reste à discuter.

Au cours de cette première partie de l'étude, les moisissures ont été isolées à un taux inférieur à celui des levures : (2 vs 13). Toutes les moisissures isolées à partir des échantillons de lait appartenaient au genre *Penicillium sp.*

Dans le cas des mammites fongiques, la prédominance des espèces levuriformes a été rapporté dans plusieurs études (Zhou et al., 2013 ; Ksouri et al., 2015). Cependant, on ne peut pas exclure une éventuelle contamination des échantillons au cours du prélèvement des échantillons du lait vue l'ubiquité des spores fongiques.

1.2 Facteurs de risque

1.2.1 Note de l'état corporel (NEC)

L'évaluation de l'état corporel au niveau des élevages laitiers constitue un outil indispensable dans la stratégie de gestion des troupeaux. C'est un outil fiable et simple pour évaluer les réserves énergétiques et adipeuses d'un animal.

Dans cette étude, la proportion de vaches mammites avec un mauvais état d'embonpoint ($BCS < 2,5$) était de 72,4%. D'une manière générale, ce résultat témoigne du mauvais état de gestion des troupeaux suivis, et pointe le doigt sur l'influence du BCS sur la manifestation des cas de mammite.

En effet, une vache avec un $BCS < 2,5$ présente plus de risque d'avoir au moins un quartier atteint de mammite, en comparaison avec les vaches présentant un $BCS \geq 2,5$. Ce résultat est analogue à celui rapporté par Berry et al., (2007) sur le rapport entre la note de l'état corporel et le dénombrement des cellules somatiques du lait. Ces derniers ont décrit une réduction des cellules somatiques du lait accompagnant l'augmentation du BCS.

En effet, une mobilisation trop importante des réserves corporelles au cours du post-partum ou un état d'engraissement extrême pourrait influencer le fonctionnement du système immunitaire. La mobilisation des réserves corporelles s'accompagne d'une libération des acides gras non-estérifiés (AGNE) dans le sang. Ces AGNE pourraient avoir un effet négatif direct ou indirect sur les neutrophiles, soit en diminuant leur production par la moelle osseuse, soit en inhibant l'activité des neutrophiles matures (Ponter et *al.*, 2013). En plus, un BCS plus faible pendant la lactation est génétiquement associé à l'apparition des mammites et des pathologies métaboliques. Les vaches ayant un mauvais état d'embonpoint pendant la lactation sont plus susceptibles à développer des mammites, et les vaches atteintes de mammite ont probablement une influence négative sur l'état d'embonpoint. Le consensus est que les vaches qui mobilisent plus de tissus adipeux (et éprouvent un plus faible BCS pendant la lactation) sont plus susceptibles aux pathologies et présentent le plus souvent des problèmes de fertilité (Loker et *al.*, 2012).

Même si les propos mentionnés ci-dessus, ainsi que les résultats rapportés dans notre étude s'accordent sur le fait que l'état d'embonpoint de la vache influence la manifestation des mammites ; cependant, un quartier d'une vache avec un $BCS < 2,5$ présente le même risque de développer une mammite fongique que celui d'une vache avec un $BCS \geq 2,5$. Cela peut être dû à l'intervention d'autres facteurs de risque au niveau des quartiers de la mamelle à l'origine de ce résultat. La disparité de ces résultats aussi bien pour les proportions que pour le risque de développer une mammite par un quartier de la mamelle serait due en grande partie à deux critères :

D'abord la multiplicité des facteurs de risque, car il est évident qu'en élevage laitier le quartier de la mamelle est sujet à de multiples facteurs de risque liés aux différentes pratiques de gestion de l'élevage ;

D'autre part, vu que les vaches incluses dans cette étude présentaient différents stades physiologiques au moment de notre intervention, une étude transversale ne permet de mesurer l'influence du BCS que d'une manière subjective.

Il est important de souligner que beaucoup d'autres études n'ont trouvé aucune relation entre la mammite et le BCS (Gearhart et *al.*, 1990 ; Ruegg et Milton, 1995 ; Heuer et *al.*, 1999), et même si la relation entre la mammite subclinique et le BCS a été démontré, toutefois, la

prévalence de mammite clinique n'était pas significativement associée au BCS (Loker et *al.*, 2012).

Au regard des résultats de l'analyse de l'influence du NEC (la note de l'état corporel) sur la manifestation des mammites fongiques, on peut dire que le BCS n'a pas d'effet significatif sur l'expression de ce type mammite.

1.2.2 Indice de propreté de la mamelle (UHS)

Les stratégies clés engagées dans le contrôle et la prévention de la pathologie mammaire doivent inclure des méthodes efficaces pour prévenir le développement de nouvelles infections et pour éliminer les infections existantes (Neave, 1966).

La présence d'agents pathogènes de la mammite sur les extrémités des trayons a été corrélée avec l'augmentation de l'incidence des infections intramammaires (Pankey, 1989). L'humidité, la boue et le fumier présents dans l'environnement de la vache sont les principales sources d'exposition aux agents pathogènes de la mammite environnementale, et la notation de l'état d'hygiène des vaches fournissent une preuve évidente de l'existence de sources potentielles. Dans cette perspective, nous avons mesuré, dans un premier temps l'indice de propreté des mamelles qui est un bon indicateur de l'état d'hygiène général des troupeaux suivis. Dans un deuxième temps, la mesure de l'influence de l'indice de propreté de la mamelle nous a permis d'évaluer le degré d'association entre ce facteur de risque, qualifié par Fortier, (1990) comme facteur d'enrichissement du milieu et la prévalence des mammites subcliniques et des mammites fongiques.

Dans l'ensemble, plus de 26% des mamelles ont été classées comme étant modérément voire très souillées (notées 3 et 4). En contrepartie, une grande proportion d'animaux (73%) a présenté des mamelles propres voire légèrement souillées (avec des notes 0 et 1). La proportion de vaches avec des mamelles qualifiées comme étant «sales» est analogue à celle reportée par Schreiner et Ruegg, (2003), avec 22% de mamelles souillées ; toutefois selon Sillett et *al.*, (2003) un taux supérieur à 20 % du troupeau est inacceptable, car les pis souillés augmentent le risque d'insalubrité du lait.

On sait bien que la litière impropre constitue une source importante de germes pathogènes pour la mamelle vue que la mamelle est en contact direct et permanent avec la litière. Selon Hanzen, (2009), la litière est considérée comme un réservoir primaire de germes dans les cas de

mammites. La consistance de la matière fécale, la gestion de la litière et le stade de la lactation ont été précédemment suggérés comme contribuant aux différences dans les scores d'hygiène de la mamelle (Ward et *al.*, 2002).

En effet, selon Schreiner et Ruegg, (2003), il existe une corrélation positive entre l'état d'hygiène de la mamelle et la prévalence des mammites subcliniques. De même, Renau et *al.*, (2003), ont noté que les exploitations les plus propres ont une moyenne en cellules somatiques inférieurs à celle qualifiées comme étant sales.

Malgré les propos cités ci-dessus indiquant l'effet de l'état d'hygiène de la mamelle sur l'incidence des mammites subcliniques et au regard des résultats de la distribution des quartiers atteints de mammites subcliniques en fonction de l'état d'hygiène de la mamelle au niveau des élevages suivis, on peut dire que les résultats de notre étude n'ont pas indiqué l'existence d'une influence significative de l'état d'hygiène de la mamelle sur la manifestation des mammites subcliniques et des mammites fongiques. Ces résultats contradictoires ne sont pas en corrélation avec la littérature, ce qui ouvre le champ à des investigations plus détaillées et plus approfondis concernant l'influence de ce facteur de risque sur l'incidence de ce type de mammites.

1.2.3 Note lésionnelle de l'orifice du trayon

Au niveau des exploitations suivies, le pourcentage de trayons avec des lésions qualifiées ''à risque'' était de 47,7%, ce taux est bien supérieur à celui généralement toléré. En effet, on admet un pourcentage inférieur ou égal à 20% (Kirck et Sischo, 2003).

L'analyse de ces résultats préliminaires nous a permis de confirmer l'existence de mauvaises conditions d'élevage, liées au non-respect de la technique et de l'hygiène de la traite, et qui pourraient être à l'origine de l'apparition de ce genre de lésions au niveau de l'extrémité du trayon (Ferrouillet et Wallace, 2004). De même, ces résultats témoignent de l'existence de conditions environnementales inacceptables pouvant être à l'origine des cas de mammites.

De nombreuses recherches ont souligné l'influence de l'état de l'orifice du trayon sur l'apparition des cas de mammites. Selon Fox et Cumming, (1996), il existe une corrélation significative entre l'état de l'orifice du trayon et la prévalence de la mammites subclinique ou la colonisation de la mamelle par les bactéries.

En effet, pour les orifices des trayons porteurs de lésions qualifiés “à risque”, la portion externe du canal du trayon ne se ferme pas complètement et la pénétration des micro-organismes en nombre élevé semble être facilitée par cet effet (Neijenhuis *et al.*, 2000). De plus, il a été démontré qu’il existe une corrélation significative entre l’état de l’orifice du trayon et la charge bactérienne du canal du trayon (Paduch *et al.*, 2012) qui pourrait avoir un effet sur la contamination du tissu mammaire.

Contrairement aux résultats postulés par la plupart des études réalisées dans cette perspective et qui ont rapporté l’influence de l’état de l’orifice du trayon sur la contamination de la mamelle et par conséquent sur l’expression clinique ou subclinique de la mammite ; bien que nos résultats ont montré une influence significative de ce facteur de risque sur la manifestation des mammites mycosiques, cependant, cette influence n’est pas assez importante (OR= 1,047). En effet, quelques études antérieures ont rapporté l’absence d’une influence significative des lésions de l’orifice du trayon sur de la prévalence des mammites cliniques (Breen *et al.*, 2009) et sur le taux cellulaire du lait (cellules somatiques) (Bhutto *et al.*, 2008). Néanmoins, vue la faible prévalence de la mammite mycosique et la taille relativement réduite de l’échantillon, il serait inadéquat de parvenir à une conclusion générale en analysant l’effet des lésions de l’orifice des trayons de 15 quartiers de la mamelle dans lesquels les agents mycosiques ont été isolés.

2 Partie 2

2.1 Protocole de l’étude

Dans la première étape de notre étude, la prévalence de la mammite mycosique était très faible, avec une proportion de 5,75% parmi le groupe de vache présentant les signes de mammite subclinique. Ce constat nous a amené à élargir notre recherche pour inclure non seulement les agents mycosiques responsables de mammite, mais aussi les bactéries pathogènes le plus souvent incriminées dans la pathologie mammaire.

Comme pour l’étape 1, nous avons entrepris une étude transversale au niveau de 14 élevages bovins, avec un effectif total de 228 vaches laitières.

Le choix du protocole de l’étude (étude transversale), se justifie par la difficulté d’entreprendre des études longitudinales dans le concept des élevages Algériens. De notre point de vue, cela pourrait être due, d’une part à l’absence de conventions de partenariat « gagnant-gagnant » entre

les universités et les élevages privés, et d'autre part au mode de gestion de élevages suivis, étant donné que la plupart des éleveurs, au moins au niveau des élevages inclus dans notre étude, ne gardent pas leurs animaux pendant de longues périodes.

2.2 Prévalence des mammites

La prévalence des mammites mesurée par le test CMT enregistrée au niveau des élevages suivis était de l'ordre de 17,12%. Globalement, ce taux est inférieur à celui obtenu au cours de la première étape de cette étude et à de ceux obtenus par d'autres chercheurs algériens : 23,68% pour Boufaïda-Asnour et *al.*, (2012) ; 28,77% pour Saidi et *al.*, (2013).

Ces différences pourraient être dues à de nombreuses raisons :

D'une part, en raison des différences dans les pratiques de gestion de l'élevage. En effet, la variation des normes d'hygiène des élevages ainsi que les conditions de traite peuvent être à l'origine de cette variabilité (Boonayatra et Chaisri, 2004). D'autre part, les races des animaux, les réponses immunitaires et les conditions climatiques peuvent également expliquer cette différence (Eberhart *et al.*, 1986). Des études antérieures ont confirmé que la race Holstein-Friesian est plus sensible aux infections mammaires, en particulier dans les zones où les conditions d'hygiène sont dérisoires (Girma, 2001). Une autre raison de la variation des résultats serait liée à la variabilité génétique car il a été démontré que l'incidence des mammites peut être influencée par certaines caractéristiques héréditaires telles que la production laitière, la structure du trayon et conformation de la mamelle (Schutz, 1993).

L'identification microbiologique des germes isolés nous a permis de mettre en évidence plusieurs types de bactéries et de levures à l'origine des infections bactérienne et mycosique de la glande mammaire.

La fréquence des germes d'origine environnementale, représentés par les staphylocoques à coagulase négative (SCN), *Micrococcus sp.*, les entérobactéries, ainsi que les agents mycosiques sont de 36,84%, 0,87%, 15,8% et 15,8, respectivement ; soit une fréquence globale de 69,31%.

Les streptocoques sont présents avec un taux de 1,75%. La prédominance des germes d'origine environnementale témoigne de la mauvaise gestion de l'hygiène des élevages suivis. En effet, un mauvais entretien de la litière et une mauvaise hygiène de la stabulation et des vaches en général sont à l'origine de la prédominance des germes à réservoir environnemental (Saidi et *al.*, 2010).

Les germes dits à réservoir mammaire représentés par *Staphylococcus aureus* ont été présents avec un taux de prévalence de 29,82 % de l'ensemble des germes isolées à partir des 221 quartiers positifs au test CMT.

Plusieurs études réalisées en Algérie ont montré des fréquences élevées de *Staphylococcus aureus*. En effet, cette bactérie très résistante est la cause majeure des infections intramammaires chez les bovins. Elle est très répandue dans les exploitations comptant moins de 30 vaches (Kalmus et al., 2011, He et al., 2014 ; Javed et al., 2015), et est responsable de 38,9% des mammites cliniques et subcliniques dans la région d'Oran (Benhamed et Kihal, 2013). *Staphylococcus aureus* est également responsable de 30,3% et de 40% des mammites subcliniques dans des provinces de l'est et du centre de l'Algérie, respectivement (Saidi et al., 2013 ; Boufaïda-Asnour et al., 2012). Cependant, la comparaison entre les résultats des différentes études de prévalence doit être effectuée avec prudence, car le choix de la collecte des échantillons ainsi que les techniques de culture microbiologique peuvent être différentes.

D'une façon générale, les résultats de l'analyse microbiologique des prélèvements de lait ont révélé une prévalence élevée des *Staphylococcus sp.* avec un taux de 66,66%. Ce taux assez élevé des staphylocoques est analogue à celui enregistré par Boufaïda-Asnour et al., (2012) qui ont enregistré un taux d'isolement de 73,3% pour les staphylocoques.

Concernant les agents fongiques responsables de mammites mycosiques, de nombreuses études menées dans différents pays ont révélé une évolution constante de la prévalence des mammites fongiques. Segundo-Zaragoza et al., (2011) ont rapporté un taux de 25,75% au Mexique, un taux de 6,1% a été enregistré en Egypte (Awad et al., 1980), 1,3% au Danemark (Aalbaek et al., 1994) et en Corée du Sud (Yeo et Choi, 1982) et 9,6% en Pologne (Costa et al., 1993). Au Brésil, des taux d'isolement de 12,07, 25,40 et 27,42% ont été enregistrés, respectivement, par Costa et al., (1993), Santos et Marin (2005) et Spanemberg et al., (2008).

Dans notre étude, la fréquence d'isolement des champignons dans tous les échantillons de lait prélevés était de 13,23%. En comparaison à l'étape 1, la prévalence des mammites fongiques était beaucoup plus supérieure à celle enregistrée précédemment au niveau de la même région d'étude. Cette disparité des résultats pourrait être due à la différence dans la gestion des troupeaux ainsi que la composante des troupeaux suivis.

L'influence des facteurs climatiques sur la prévalence des mammites fongiques pourrait encore être à l'origine de cette différence (Ksouri, 2008). Cependant, il faut prendre en compte

l'influence de la gestion de l'élevage qui diffère d'une saison à l'autre et d'un élevage à l'autre (pendant l'hiver, les animaux sont confinés à l'étable alors qu'en été, ils sont le plus souvent au pré).

Au regard des agents microbiens responsables des mammites fongiques ; comme pour la première partie de ce présent travail, on a enregistré la prédominance du genre *Candida* sp. ; *Candida tropicalis* étant l'espèce la plus isolée, suivie par *Candida albicans*, *Candida guilliermondii* et *Candida famata*.

Les espèces de *Cryptococcus* sp. représentaient 38,33% des isolats. Une prédominance de *Cryptococcus laurentii* était enregistrée au niveau des élevages suivis. L'identification de *Cryptococcus laurentii* a été rapporté par d'autres auteurs (Spanamberg et al., 2008 ; Mbuk et al., 2016) ; Cependant, *Cryptococcus neoformans* considéré comme l'espèce la plus pathogène n'a pas été isolée. En effet, la mammite cryptococcique est habituellement associée au traitement antibiotique des mammites.

Les autres espèces identifiées pendant la deuxième partie de cette étude appartiennent aux genres : *Trichosporon* sp. et *Rhodotorula* sp.

2.3 Antibiogramme

Pour la mammite bovine, la résistance de *Staphylococcus aureus* à la pénicilline est considérée comme le type d'antibiorésistance le plus connue et le plus important (Barkema et al., 2006). Dans la présente étude, la plupart des souches de *Staphylococcus aureus* et de staphylocoques à coagulase négative étaient résistantes à la pénicilline. Cette forte résistance à la pénicilline peut expliquer en partie la difficulté du traitement de la mammite staphylococcique, étant donné que la probabilité de guérison du *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline est inférieure à celle des *Staphylococcus aureus* sensibles à la pénicilline (Barkema et al., 2006). De plus, il a été démontré que les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline sont souvent plus résistantes aux autres antibiotiques habituellement utilisés pour le traitement de la mammite, que les souches sensibles à la pénicilline (Ziv et Storper, 1985 ; Sol et al., 1997). Selon Ito et al., (2003), une telle condition pourrait s'expliquer par la coexistence sur des îlots de pathogénicité de gènes codant pour des facteurs de résistance à la pénicilline et de celles de facteurs de virulence, par exemple, des gènes codant pour la production de biofilms.

Les résultats obtenus sont d'une grande importance si l'on considère que toutes les infections à *Staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline ne sont pas réceptives au traitement antibiotique (Barkema et al., 2006).

Le taux de susceptibilité des isolats testés vis-à-vis de la pénicilline a été significativement inférieur à celui rapporté dans certains pays (Turutoglu et *al.*, 2006), et même à ceux rapportés en Algérie (Saidi et *al.*, 2012 ; Akkou et *al.*, 2016). Cela pourrait être dû à une mauvaise utilisation des agents antibactériens dans la région d'étude, où ceux-ci sont pratiquement dispensés sans prescriptions.

Dans le cas des mammites bovines, la résistance peut être due au mauvais choix du traitement ou à un traitement incomplet par les antibiotiques (Tras et *al.*, 2007).

Parmi les 10 antibiotiques testés, la pénicilline présentait le taux de résistance le plus élevé : 88,9%. Ce taux de résistance assez élevé vis-à-vis de la pénicilline a été enregistré par Akkou et *al.*, (2016), avec un taux de 86,5%.

La résistance à la pénicilline observée dans cette étude doit être préoccupante vue que cet antibiotique représente le principal groupe d'antibiotique recommandé pour le traitement de la mammite staphylococcique. La résistance aux antibiotiques est portée sur les plasmides et les transposons qui peuvent passer d'une espèce staphylococcique à une autre, et l'utilisation régulière d'antibiotiques pour le traitement des vaches peut entraîner la propagation de souches résistantes (Weckenthin et *al.*, 2001).

Le recours à certains antibiotiques dans le traitement et le contrôle de la mammite, comme l'administration par voie diathétique ou par voie systémique de la pénicilline est associée au développement de la résistance vis-à-vis de cet antibiotique chez les bovins. En effet, l'utilisation intempestive des antibiotiques peut entraîner la propagation de souches résistantes. Ces observations suggèrent que l'exposition à long terme aux antibiotiques (par exemple, en cas d'antibiothérapie prolongée) augmente considérablement le risque d'antibiorésistance (Pol et Ruegg, 2007), comme observé dans la présente étude.

Dans une étude réalisée au Brésil, l'antibiorésistance à la pénicilline était significativement corrélée au non recours aux tests microbiologiques permettant l'identification du germe et la détermination de sa susceptibilité vis-à-vis des antibiotiques utilisés (Beuron et *al.*, 2014). Tous les élevages visités au cours de cette présente étude ne pratiquaient ni l'identification ni des germes de mammites ni l'antibiogramme avant l'instauration d'une antibiothérapie.

L'utilisation de certains antibiotiques administrés pour le traitement et le contrôle de la mammite, comme la pénicilline et la pirlimycine par voie intramammaire ainsi que la pénicilline

et le florfénicol administrés par voie systémique est positivement associée à la résistance à ces antibiotiques chez les bovins.

La résistance à la tétracycline semble prendre de l'ampleur vue l'utilisation abusive de cet antibiotique dans le traitement des cas de mammites et même des autres infections bactériennes. Une étude réalisée auprès des vétérinaires praticiens de la wilaya de Constantine a démontré que l'antibiotique le plus utilisé dans le traitement des mammites et des affections respiratoires est l'oxytétracycline (Boultif, 2015). En effet, selon ce même auteur (Boultif, 2015), les antibiotiques utilisés pour le traitement des mammites par voie intra-mammaire sont par ordre décroissant : les tétracyclines (55%), les bêtalactamines (33%), les macrolides (9.67%) et enfin les sulfamides (3.22%) ; Pour le traitement des mammites par voie générale, presque les mêmes molécules sont retrouvées: les bêtalactamines (46.5%), les tétracyclines (26%), les macrolides (22.5%) et enfin les sulfamides (8.69 %).

Comme précédemment mentionné pour la pénicilline et l'oxytétracycline, la résistance à l'érythromycine semble aussi être due au recours intensif à cet antibiotique macrolide dans le traitement des affections microbiennes, comme mentionné par Boultif, (2015). Ces deux antibiotiques sont eux-mêmes source d'antibiorésistance et par conséquent d'échecs thérapeutiques.

Les souches multi-résistantes, présentant une résistance à plus de 3 antibiotiques représentent 19/49 (38,77%) des souches testées ; avec 8/49 (16,32%) ayant accusées une résistance contre 4 antibiotiques. Cette même proportion était enregistrée à la résistance vis-à-vis de 5 antibiotiques. Alors que les souches avec une résistance contre 6 et 7 antibiotiques étaient de 3/49 (6,12%) et 2 /49 (4,08%), respectivement.

En conclusion, les différences observées dans l'activité des antibiotiques testés contre les staphylocoques démontrent bien l'importance des tests de sensibilité aux antibiotiques ainsi que celle de l'identification des agents bactériens. Pour le traitement des animaux infectés, il est important de déterminer le phénotype de la résistance et d'éviter la sélection de souches résistantes.

2.4 Aromatogramme

L'utilisation abusive et intempestive des antibiotiques sont à l'origine de l'émergence de bactéries gram positives résistantes qui représentent un défi majeur à la thérapie

antimicrobienne, augmentant par conséquent l'incidence des mammites cliniques et subcliniques. De plus, l'utilisation de plus en plus d'antibiotiques a ouvert la voie à l'émergence de la mammite mycosique. Par conséquent, la sévérité de la mammite fongique, associée à l'absence de médicaments antifongiques efficaces, nous a conduits à considérer la source inépuisable des remèdes naturels : les huiles essentielles.

Le but de la présente étude était de déterminer l'activité antimicrobienne des 3 huiles essentielles contre un large éventail de pathogènes responsables de mammites subcliniques, avec une attention particulière portée sur l'efficacité de ces huiles vis-à-vis des isolats de mammite mycosique.

Selon la classification proposée par Ponce et *al.*, (2003), en utilisant la méthode de sensibilité sur disque standardisée et en se basant sur les valeurs de la zone d'inhibition, l'huile essentielle de la cannelle (*Cinnamomum aromaticum*) a confirmé sa forte activité antibactérienne vis-à-vis des staphylocoques à coagulase positive : *Staphylococcus aureus* (zone d'inhibition de 52 mm, +++) et des staphylocoques à coagulase négative (SCN) (zone d'inhibition de 48 mm, +++) , tel que rapporté dans la littérature (Zhu et *al.*, 2016). Une activité antifongique plus forte que celle exprimée vis-à-vis des souches bactériennes a été rapportée.

Sur la base des valeurs de la zone d'inhibition, l'huile essentielle de la cannelle semble avoir une activité plus forte vis-à-vis des souches fongiques que des souches bactériennes. En effet, Chao et *al.*, (2000) ont démontré que *Cinnamomum zeylanicum* est un inhibiteur plus efficace de *Candida albicans* que de *Staphylococcus aureus*.

Selon les résultats de ce test préliminaire, toutes les souches bactériennes et fongiques testées étaient extrêmement sensibles à l'huile essentielle de la cannelle, ce qui confirme ses activités antibactériennes et antifongiques contre les germes pathogènes de la mamelle, comme indiqué auparavant par Zhu et *al.*, (2016).

Cette activité peut être associée à la présence de cinnamaldéhyde, qui est le composant principal de l'huile testée : 73,35% (Selles et *al.*, 2017). En effet, le composant principal, le cinnamaldéhyde, s'est avéré particulièrement efficace contre certaines bactéries Gram-positives et certaines levures, y compris les espèces appartenant au genre *Candida sp.*

En évaluant la propriété antimicrobienne de l'huile essentielle du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et de la menthe (*Mentha spicata*) par la méthode de diffusion sur disque, nous avons trouvé que l'huile essentielle du clou de girofle possède de très fortes activités

antimicrobiennes comme décrits précédemment par Ahmad et *al.*, (2013). Cependant, en se référant aux zones d'inhibition, il semblerait que l'activité antifongique de cette huile est plus forte que son activité antibactérienne, ce qui est en contradiction aux résultats rapportés par Ahmad et *al.*, (2013). La divergence entre les résultats des différents travaux peut être due à l'origine des souches microbiennes mais aussi aux techniques utilisées par les différents laboratoires. En effet, les souches utilisées par Ahmad et *al.*, (2013) ont été isolées à partir du tractus urogénital.

Le test préliminaire pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la menthe vis-à-vis des souches testées, y compris *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus chromogenes* nous a montré que ces bactéries sont légèrement sensibles à cette huile essentielle et que l'huile essentielle de la menthe possède la plus faible activité antibactérienne en comparaison à celles obtenues à partir de la cannelle et du clou de girofle.

Les résultats susmentionnés ont été pris en compte pour la réalisation de la suite des investigations. Par conséquent, nous avons décidé de déterminer la CMI et la MBC (ou MFC) de quelques souches isolées des cas de mammite subclinique afin de déterminer le degré d'efficacité des huiles de la cannelle ainsi que celle du clou de girofle vis-à-vis des souches étudiées.

La détermination des paramètres d'inhibition (CMI et CMB/CMF) nous a permis non seulement de confirmer les résultats obtenus mais aussi de quantifier l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du *Cinnamomum aromaticum* et du *Syzygium aromaticum* sur les micro-organismes testés.

Pour l'huile essentielle de la cannelle, les CMIs des souches *Staphylococcus sp.* étaient très similaires, et aucune différence entre les staphylocoques à coagulase positive et les staphylocoques à coagulase-négative n'a été observée. La similitude de la susceptibilité aux constituants de l'huile essentielle exprimés par les différentes souches de *Staphylococcus aureus* a déjà été reportée par Dal Pozzo et *al.*, (2012).

Toutefois, la CMI de l'extrait de la cannelle testée sur *Staphylococcus aureus* observée dans cette étude était inférieure à celle de l'huile essentielle de *Cinnamomum verum* (0,125%, v / v) (Bouhdid et *al.*, 2010), supérieure à celle de *Cinnamomum zeylanicum* (0,056 %, v / v) (Unlu et *al.*, 2010) et identique à celle de l'huile essentielle de *Cinnamomum aromaticum* (0,0625%, v / v) (Zhu et *al.*, 2016).

En plus, la CMI des staphylocoques était indépendante du profil de résistance aux antibiotiques. Cette indépendance vis-à-vis du profil de sensibilité antibactérien a été rapportée par Dal Pazzo et *al.*, (2012), qui ont démontré qu'il n'y avait pas de différences significatives dans la susceptibilité de *Staphylococcus aureus* à l'huile essentielle de la cannelle.

Alors que les CMIs des souches *Staphylococcus sp.* étaient très similaires, les CMBs étaient relativement différentes avec des concentrations qui variaient entre 0,25 et 1%. Les ratios CMI/CMB pour certaines bactéries testées étaient extrêmement élevés, indiquant que l'huile essentielle de la cannelle est plutôt bactériostatique que bactéricide pour ces *Staphylococcus sp.* isolées de la glande mammaire.

L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* semble avoir une activité bactériostatique vis-à-vis de quelques souches de *Staphylococcus aureus* (2 souches sur 8) et vis-à-vis de *Staphylococcus chromogenes*.

Nos résultats sur la propriété fongistatique de l'huile essentielle de la cannelle étaient assez diversifiés, et les CMIs variaient entre 0,0312 et 0,125% (0,312-1,25 µl/ml). Les valeurs CMF se situaient entre 0,125-0,25% et indiquaient que cette huile essentielle possède une forte activité antifongique contre les agents mycosiques de la mammite, y compris *Candida albicans*, l'un des agents pathogènes les plus communs de la mammite clinique et subclinique. Cependant, les CMIs et les CMFs de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* étaient plus élevées que celles de l'huile essentielle de la cannelle.

La variabilité des CMIs et des CMFs des souches fongiques étudiées peut être due à la susceptibilité de la souche, y compris le profil antimicrobien des agents fongiques. En effet, dans une étude réalisée antérieurement, les souches de *Candida sp.* résistantes au fluconazole étaient moins sensibles à l'huile essentielle de cannelle que celles sensibles au fluconazole (Pozzatti et *al.*, 2008).

En se basant sur les ratios MFC/MIC, l'huile essentielle de la cannelle semble avoir une très bonne activité fongicide vis-à-vis des souches fongiques isolées à partir des quartiers de la mamelle et présentant les signes de la mammite subclinique ; cela pourrait être intéressant et pourrait être exploité pour combattre la mammite récalcitrante impliquant les champignons pathogènes. L'huile essentielle du clou de girofle semble avoir un effet fongistatique vis-à-vis de : *Candida albicans*, *Candida zeylanoides*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus albidus* et

Rhodothorula glutinis ; alors qu'elle est fongicide vis-à-vis de *Candida lambica* et les 4 souches de *Cryptococcus laurentii*.

Les effets antibactériens et antifongiques de l'huile essentielle de *Cinnamomum aromaticum* peuvent être attribués aux différents composants de l'écorce de la cannelle de Chine, y compris le cinnamaldéhyde, qui représentent le principal composant de cette huile. En effet, en plus de l'effet antibactérien et antifongique mentionné précédemment, il a été prouvé que le cinnamaldéhyde possède une forte activité inhibitrice vis-à-vis de la formation des biofilms par des souches *Staphylococcus aureus* responsables de mammites subcliniques (Budri et al., 2015). Cette activité du cinnamaldéhyde vis-à-vis des souches cliniques de *Candida albicans* a été étudiée par Khan et Ahmad (2011), et il a été prouvé que le cinnamaldéhyde présente non seulement une activité anti-biofilm mais aussi une bonne activité antifongique vis-à-vis de des formes sessiles et planctoniques de *Candida albicans* résistantes à l'amphotéricine B et au fluconazole.

Toutefois, vu que l'huile essentielle testée renferme plus de 89 composants (Selles et al., 2017), l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la cannelle pourrait être attribuée non seulement au cinnamaldéhyde seul, mais aussi à l'effet synergique entre les différents composants de l'huile essentielle, y compris les constituants mineurs.

Il est difficile d'attribuer l'activité de ces huiles essentielles à un constituant particulier, mais il est raisonnable de supposer que l'activité de ces huiles peut être liée à la présence d'une concentration élevée du principal constituant.

Pour l'huile essentielle du clou de girofle, l'eugénol s'est avéré être un composant actif, avec des valeurs de CMI allant de 0,08 à 0,64 µl/ml (Pinto et al., 2009).

L'action des huiles essentielles et de leurs composants vis-à-vis des bactéries Gram-positives et les champignons semblent être similaire. A des concentrations égales aux CMI, en ciblant la membrane cellulaire, l'huile essentielle de cannelle de Chine altère l'intégrité de la membrane de *Staphylococcus aureus* (Zhu et al., 2006). Dans une autre étude, le même mode d'action a été signalé contre *Candida albicans* ; la membrane cellulaire étant le site d'action du cinnamaldéhyde dans les cellules sessiles et planctoniques (Khan et Ahmad, 2011). Un autre mode d'action a été rapporté pour l'huile essentielle de *Cinnamomum camphora*, qui induit une apoptose précoce en interférant avec la fonction mitochondriale normale.

L'huile essentielle du clou de girofle et l'eugénol induisent une réduction considérable de la quantité d'ergostérol, qui est un composant spécifique de la membrane cellulaire fongique. A des valeurs inférieures aux CMI, cette huile essentielle et son principal composant, l'eugénol, induisent aussi une inhibition complète ou partielle de la formation du tube germinatif par *Candida albicans* (Pinto et al., 2009).

V. CONCLUSION & PERSPECTIVES

Au cours de la réalisation de notre travail, on a constaté que malgré les pertes considérables qu'elle peut engendrer, la mammite mycosique continue à être mal prise en considération par les éleveurs Algériens. En effet, la mammite fongique est encore peu connue par les vétérinaires praticiens et très peu d'études ont été réalisées afin d'évaluer l'incidence de la mammite mycosique et d'étudier les facteurs de risque liés à cette pathologie.

Les résultats de notre enquête d'observation permettent d'avoir une idée assez importante de la réalité des élevages de la région. La comparaison des résultats avec ceux de la littérature suggère toutefois beaucoup de précautions. Il convient de prendre en considération par exemple la conduite et la taille des troupeaux, le type d'échantillonnage, les méthodes d'identification, et la durée et la période de l'étude.

Globalement, au cours de la première partie de cette étude, nous avons enregistré une prévalence des mammites fongiques de 5, 75%, parmi les vaches présentant les signes de mammite subclinique. Cette prévalence assez faible mais en rapport avec celles rapportées par la littérature, nous a amené à considérer le rôle des bactéries dans la manifestation de ce type de mammite. La suite de notre investigation nous a permis d'enregistrer un taux de 13,23% pour les mammites fongiques et un taux de 72,72% pour les mammites bactériennes, pour les quartiers à CMT+.

Parmi les pratiques associées à la manifestation des mammites fongiques, et à l'opposé des résultats d'analyses statistiques n'ayant rapporté aucune association entre l'indice de propreté de la mamelle, la note de l'état corporel et la mammite mycosique ; les lésions de l'orifice du trayon semble avoir un effet légèrement positif sur la manifestation de ce type de mammite. Ce facteur concerne principalement la technique de traite (la surtraite et un mauvais fonctionnement de la machine à traire) et l'hygiène de la traite (non utilisation des solutions de prè-trempage et de post-trempage). Néanmoins, vue la faible prévalence de la mammite mycosique et la taille relativement réduite de l'échantillon, il serait inadéquat de parvenir à une conclusion générale en analysant l'effet des facteurs de risque de 15 quartiers de la mamelle dans lesquels les agents mycosiques ont été isolés.

Une prédominance assez élevée des mammites staphylococciques a été enregistrée au niveau des élevages suivis. Cette situation pourrait aggraver le cas de l'antibiorésistance déjà présenté par les souches bactériennes examinées au cours de ce travail, d'une part, en incitant de plus en

plus les éleveurs à privilégier le recours à aux traitements antibiotiques, ce qui n'est pas sans danger pour la santé des consommateurs et même des intervenants dans le secteur laitier ; d'autre part, cette situation pourrait augmenter l'incidence des mammites fongiques secondaires au traitement antibiotique.

En l'absence de thérapie spécifique, le recours à des traitements alternatifs nous semble être une solution envisageable pour traiter et prévenir les mammites fongiques secondaires. Dans cette perspective, nous avons évalué l'activité antifongique et antibactérienne de quelques huiles essentielles.

D'une façon générale, l'activité antimicrobienne efficace des huiles essentielles de la cannelle de Chine et du clou de girofle vis-à-vis des *Staphylococcus sp.* et des souches fongiques obtenues dans la présente étude, suggère que ces huiles pourraient être utilisées comme une thérapie alternative au cours du tarissement, limitant par conséquent l'utilisation abusive des antibiotiques dans le traitement et la prévention des mammites bactériennes, et réduisant l'expansion de la mammite mycosique secondaire, consécutive au traitement antibiotique de la mammite staphylococcique surtout au cours du tarissement. Néanmoins, il serait intéressant d'élargir l'étude pour explorer l'effet cytotoxique de ces huiles. De plus, avant toute application *in vivo* de ces huiles ou de l'un de leurs dérivés antimicrobiens, il serait nécessaire de réaliser des tests de toxicité sur les cultures de cellules mammaires.

Cette étude peut être considérée comme une première source d'informations sur les propriétés antibactérienne et antifongique des huiles essentielles de cannelle de Chine et du clou de girofle vis-à-vis des germes incriminés dans la mammite bovine. Elle nous a permis d'obtenir des résultats très intéressants, mais ouvre des perspectives et de nouvelles pistes de recherche. En termes de limites, il convient de traiter ces résultats dans un contexte plus prospectif avant toute exploitation de ces résultats, il convient d'explorer l'effet cytotoxique avant la réalisation des tests *in vivo*.

A

-
1. **Aalbaek B., Stenderup J. Jensen H.E., Valbak J., Nylin B., Huda A., 1994.** Mycotic and algal bovine mastitis in Denmark. *APMIS*, 102, 451–456.
 2. **Adkinson R.W., Ingawa K.H., Blouin D.C., Nickerson S.C., 1993.** Distribution of Clinical Mastitis among Quarters of the Bovine Udder. *Journal of Dairy Science*, 76(11), 3453-3459.
 3. **Ahmad A., Shaheen A., Owais M., Gaurav S.S., 2013.** Antimicrobial activity of *Syzygium aromaticum* oil and its potential in the treatment of urogenital infections. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education, *FORMATEx 2013*, 865-871.
 4. **Akkou M., Antri K., Bachtarzi M.A., Bes M., Tristan A., Dauwalder O., Kaidi R., Meugnier H., Tazir M., Etienne J., Laurent F., Ramdani-Bougouessa N., 2016.** Phenotypic and genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with bovine mastitis and nasal carriage of workers in contact to animals in Algeria. *Pakistan Veterinary Journal*, 36(2), 184- 188.
 5. **Ali R., Khan H., 2006.** Mycotic abortion in cattle. *Pakistan Veterinary Journal*, 26(1), 44-46.
 6. **Alice D., 2011.** Faisabilité de la mise en place d'une Indication Géographique Sur le Clou de girofle à Madagascar. *Thèse, Ecole supérieure d'Agro-Développement International ISTOM*, p. 65-72.
 7. **Amrati F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Arab L., El-Ajjouri M., Chaouch A. , 2010.** Chemical composition and antimicrobial activity of the *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut. and *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. essential oils of Morocco. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement*, 14, 141-148.
 8. **Arnold P., Ahern D.G., 1972 ; cité par Swinne D., Moubamba D., Lagneau P.E., Geerts S., 2002.** Nouveaux cas d'infections par *Prototheca zopfii* chez la vache laitière en Belgique. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 311-315.

9. **Atmani H., Baira K., 2015.** Mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique et l'étude des caractères Physico-chimique de l'huile essentielle du clou de girofle *Syzygium aromaticum* L. *Thèse de Master, Université Frères Mentouri 1 Constantine.*
10. **Auteroche B., 1993.** Une plante familière de la pharmacopée chinoise : Le cannelier - *Cinnamomum cassia .Presl. (Gui). Méridiens, 101, 87-98.*
11. **Awad F.I., El Molla A., Fayed A., Abd El-Halim M., Refai M., 1980.** Studies of mycotic mastitis in Egypt. *J Egypt Vet Med Ass, 40(3), 35–41.*

B

12. **Bauer N., 1989 ; cité Fortier G., 1990.** Mammmites mycosiques des bovines, flore fongique du lait, pathogénie et moyen de lutte. *Thèse de Médecine Vétérinaire, Alfort, 145 pages.*
13. **Baumgartner M., Spengser J., Schoder G., Winter P., 2008.** Outbreak of clinical yeast mastitis in a dairy herd following simultaneous intramammary antibiotic treatment of 23 cows. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift, 95, 15-21.*
14. **Bareille N., Lemarchand F., 2004.** La désinfection des trayons avant et après la traite : comment choisir les méthodes et les produits. *Bull. GTV, N° 24,21-27.*
15. **Barkema H.W., Schukken Y.H., Lam T.J., Galligan D.T., Beiboer M.L., Brand A., 1997.** Estimation of Interdependence among Quarters of the Bovine Udder with Subclinical Mastitis and Implications for Analysis. *Journal of Dairy Science, 80(8), 1592-1599.*
16. **Barkema H., Schukken Y., Lam T., Beiboer M., Wilmink H., Benedictus G., Brand A., 1998.** Incidence of Clinical Mastitis in Dairy Herds Grouped in Three Categories by Bulk Milk Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science, 81(2), 411-419.*
17. **Barkema H., Schukken Y., Zadoks R., 2006.** Invited review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *Journal of Dairy Science, 89, 1877-1895.*
18. **Benbelkacem I., 2010.** Contribution à l'étude des mammmites fongiques des bovins dans deux élevages de la région de Tiaret. *Thèse de magistère, Ecole Supérieure Nationale Vétérinaire-Alger, 135 pages.*
19. **Benbelkacem I., Aissi M., 2012.** Effects of hygiene conditions improvement on fungal

- mammary infection in two Algerian dairy herds. In: Abstract Book: XXVII World Buitrics Congress, Lisbon, Portugal (*Associação portuguesa de buiatria*), 150.
- 20. Benhamed N., Kihal M., 2013.** Phenotypic and genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* agents of dairy cows' mastitis in Algeria. *Journal of Applied Sciences and Research*, 9, 86-93.
- 21. Benito-Trujillo B., 1955 ; cité par Fortier G., 1990.** Mammmites mycosiques des bovines, flore fongique du lait, pathogénie et moyen de lutte. *Thèse de Médecine Vétérinaire, Alfort*, 145 pages.
- 22. Berry D., Buckley F., Dillon, P., 2007.** Body condition score and live-weight effects on milk production in Irish Holstein-Friesian dairy cows. *Animal*, 1(09).
- 23. Bertslinger H. U., Schweizer R., Scholer H. J., 1964; cité par Ksouri S., 2008.**
Contribution à l'étude des mammmites fongiques des bovins dans deux élevages laitiers de la région de Guelma. *Thèse de Magistère en Médecine Vétérinaire, El Taref*, 184 pages.
- 24. Beuron D., Cortinhas C., Botaro B., Macedo S., Gonçalves J., Brito M., Santos M., 2014.** Risk factors associated with the antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(10), 947-952.
- 25. Bhutto A.L., Murray R.D., Woldehiwet Z., 2010.** Udder shape and teat-end lesions as potential risk factors for high somatic cell counts and intra-mammary infections in dairy cows. *Veterinary Journal*, 183(1), 63-67.
- 26. Blonco J.L., Garcia M.E., 2008.** Immune response to fungal infections. *Veterinary immunology and immunopathology*, 125, 47-70.
- 27. Boonayatra S., Shaisri W., 2004.** Incidence and prevalence of subclinical mastitis in small holder dairy farms in Chang Mai province, Thailand. *Department of Ruminant Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University Chiang Mai*, 2547(2), 25-30.
- 28. Boufaïda-Asnour Z., Butel M.J., Ouzrout R., 2012.** Prévalence des principales bactéries responsables de mammmites subcliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 65 (1-2), 5-9.
- 29. Bouhdid S., Abrini J., Amensour M., Zhiri A., Espuny M. J., Manresa A., 2010.** Functional

- and ultrastructural changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Cinnamomum verum* essential oil. *Journal of Applied Microbiology*, 109, 1139–114910.
- 30. Boulkaboul A., 2003.** Parasitisme des tiques (*Ixodidae*) des bovins à Tiaret, Algérie. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 56 (3-4), 157-162.
- 31. Boultif L., 2015.** Détection et quantification des résidus de Tétracycline et de Pénicilline dans le lait de vache par chromatographie liquide haute performance (HPLC). *Thèse de doctorat en sciences Vétérinaires (12/DS/2015). Institut des sciences vétérinaires, université des frères Mentouri-Constantine.*
- 32. Bourachot M., 2017.** Traitement des mammites chez la vache laitière : l'aromathérapie, état des lieux et perspectives. *Thèse de doctorat vétérinaire. Vet-Agro Sup, Lyon*, 111 p.
- 33. Bourtzi-Hatzopoulou E., Zdragas A., Petridou E., Filiouis G., 2003.** Yeasts as a causative agent of bovine mastitis in Greece. *Journal of Hellenic Veterinary Medical Society*, 54(2), 105-110.
- 34. Bradley A., 2002.** Bovine Mastitis: An Evolving Disease. *Veterinary Journal*, 164(2), 116-128.
- 35. Breen J.E., Green M.J., Bradley A.J., 2009.** Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. *Journal of Dairy Science*, 92(6), 2551–2561.
- 36. Budri P., Silva N., Bonsaglia E., Fernandes A., Araújo J., Doyama J., Gonçalves J., Santos M., Fitzgerald-Hughes D., Rall V., 2015.** Effect of essential oils of *Syzygium aromaticum* and *Cinnamomum zeylanicum* and their major components on biofilm production in *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk of cows with mastitis. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 5899-5904.

C

-
- 37. Chabasse D., Bouchara J.P., De Gentile L., Brun S., Cimon B., Penn P., 2002.** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation biologie médicale. *BIOFORMA N°25*, 159 pages.

- 38. Chahota R., Katoch R., Mahajan A., Verma S., 2001.** Clinical bovine mastitis caused by *Geotrichum candidum*. *VETERINATSKY ARHIV* 71 (4), 197-201.
- 39. Chambers J.V., non daté.** The Infection Process of Mastitis: understanding and managing the host-parasite relationship, *Purdue University*, 10 pages.
- 40. Chao S. C., Young D. G., Oberg C.J., 2000.** Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of Essential Oil Research*, 12(5), 639-649.
- 41. Chen F.C., Chen C.F, Wei R.D, 1982; cités par Whitlow L.W., Hagler M.W., non daté.** Mycotixin Effects in Dairy Cattle. *North Carolina State University, Raleigh, NC*, 6 pages.
- 42. Chengappa M.M., Maddux R.L., Greer S. C., Pincus D.H., Geist L.L., 1984.** Isolation and identification of yeasts and yeast like organisms from clinical veterinary sources. *Journal of clinical microbiology*, Mars, 427-428.
- 43. Chermette R., 1994.** Mycoses des ruminants et santé publique. *Le point Vétérinaire, Numéro spécial*, 26, 43–8.
- 44. Coube J., 1997.** Avortements et mammites mycosiques des bovins : étude bibliographique des connaissances actuelles. *Thèse de Docteur Vétérinaire, ENV Nantes.*, 35, 310-317.
- 45. Costa E.O., Gandra C.R., Pires M.F., Coutinho S.D., Teixeira C.M., 1993.** Survey of bovine mycotic mastitis in dairy herds in the state of Sao Paulo, Brazil. *Mycopathologia*, 124, 13–17.
- 46. Crawshaw W.M., MacDonald N.R., Duncan G., 2005.** Outbreak of *Candida rugosa* mastitis in a dairy herd after intramammary antibiotic treatment. *Veterinary Records*, 156, 812-813.
- 47. Cutler N.R., Sramek J.J., Narang P.N., 1994.** Pharmacodynamics and Drug Development: Perspectives in Clinical Pharmacology. *John Wiley & Sons*, 491 pages.
- 48. Cysewski S. J., Pier A. C., 1968.** Mycotic abortion in exes produced by *Aspergillus fumigatus*. Pathologic changes. *American Journal of Veterinary Research*, 29, 1135-1151.

D

- 49. da COSTA, G. M., de Pádua Pereira, U., Souza-Dias, M. A. G., da SILVA, N., 2012.** Yeast mastitis outbreak in a Brazilian dairy herd. *Brazilian Journal of Veterinary Research in Animal Sciences*, 49: 239-243.
- 50. Dal Pozzo M., Santurio D., Rossatto L., Vargas A., Alves S., Loreto E., Viegas J., 2011.** Activity of essential oils from spices against *Staphylococcus spp.* isolated from bovine mastitis. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63(5), 1229-1232.
- 51. De Fonseca M., Losson B., 1980 ; cités par Ksouri S., 2008.** Contribution à l'étude des mammites fongiques des bovins dans deux élevages laitiers de la région de Guelma. *Thèse de Magistère en Médecine Vétérinaire, El Taref*, 184 pages.
- 52. Dismukes W.E., Pappas P.G., Sobel J.D., 2003.** Clinical mycology. *Oxford University Press*, 416-419.
- 53. Dufresne P., 2014.** Identification des champignons d'importance médicale. *Laboratoire de santé publique du Québec*, 53 pages.
- 54. Dwight C.H., Zee Y.C., 2002.** Veterinary microbiology. *Ed. Blackwell Science*. 463pages.

E

-
- 55. Eberhart R.J., Natzke R.P., Newbould F.H.J., 1986.** Coliform mastitis. A review. *Journal of Dairy Science*, 62, 1-22.
- 56. Edmonson A., Lean I., Weaver L., Farver T., Webster G., 1989.** A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 72(1), 68-78.
- 57. Euzeby J., 1969.** Cours de mycologie médicale comparée, les mycoses des animaux et leurs relations avec les mycoses de l'homme. *Edition Vigot Frères*, pages 42-113.
- 58. Euzeby J., 2008.** Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire. *Edition Lavoisier*.

F

-
- 59. Farensworth R. J., Sorensen D. K., 1972.** Prevalence and species distribution of yeast in mammary glands of dairy cows in Minnesota. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 329-332.

- 60. Farensworth R.J., 1977;** cité par **Pengov A., 2002.** Prevalence of mycotic mastitis in cows. *Acta Veterinaria (Beograd)*. 52 (2-3), 133-136.
- 61. Ferrouillet C., Wallace J., 2004.** Des trayons en santé ? *Le Producteur de Lait Québécois*, Octobre, 37-39.
- 62. Fontaine M., 1993.** Vade-mecum du vétérinaire : Formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène. *Office des publications universitaire* ; Quinzième édition, 763-816.
- 63. Fortier G., 1990.** Mammites mycosiques des bovins, flore fongique du lait, pathogénie et moyen de lutte. *Thèse de Médecine Vétérinaire, Alfort*, 145 pages.
- 64. Fournier A., 2006.** Redoutables mycotoxines. *Bulletin des agriculteurs*, novembre, 3740.
- 65. Fox L., Cumming M., 1996.** Relationship between thickness, chapping and *Staphylococcus aureus* colonization of bovine teat tissue. *Journal of Dairy Research*, 63(03), p.369.
- 66. Franchomme P., Jollois R., Penoel D., 2001.** L'aromathérapie exactement. *Editions Roger Jollois*, 490 p.
- 67. Federici-Mathieu C., Godin M., 2002.** La machine à traire : fonctionnement, incidence sur la santé des mamelles. *Journées Nationales des GTV, Tours 2002*, 369-392.

G

-
- 68. Garcia M.E., Caballero J., Cruzado M., Andrino M., Gonzalez- Cabo, J.F., Blanco, J.L., 2001;** cité par **Blonco J.L., Garcia M.E., 2008.** Immune response to fungal infections. *Veterinary immunology and immunopathology*, 125, 47-70.
- 69. Gedilaghine, V., 2005.** La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière. Conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action GTV Partenaire dans le Département de la Manche. *Doctoral dissertation*.
- 70. Gearhart M., Curtis C., Erb H., Smith R., Sniffen C., Chase L., Cooper, M., 1990.** Relationship of Changes in Condition Score to Cow Health in Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 73(11), 3132-3140.
- 71. Girma T., 2001.** Prevalence of mastitis at Alemaya University dairy farm. *Journal of the Ethiopian Veterinary Association*, 5, 17-21.

72. **Goncalves FA., Andrade Neto M., Bezerra J.N., Macrae A., Sousa O.V., Fonteless-Filho A.A., Vieira R.H., 2008.** Antibacterial activity of Guava, *Psidium guajava* Linnaeus leaf extracts on diarrhea causing enteric bacteria isolated from Seabob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri*. *Revue Institut Medecine Tropicale de Sao Paulo*, 50, 11-15.
73. **Gonzalez R.N., Wilson D. J., Sickles S.A., Zurakowski M.J., Weybrecht P.M., Wilsh A.K., 2001.** Outbreaks of clinical mastitis caused by *Trichosporon beigeli* in dairy herds. *JVMA*, 218(2), 238-242.
74. **Guilhon J., Charton A., Drouchet E., Kahn J., Leconaet J., 1961.** Mammite de la vache due à *Candida pseudotropicalis*. *Bul. Acad. Vét. Tome XXXIV Décembre. Ed.Vigot frères*, pages 367-370.

H

-
75. **Hanzen C.H., 2000.** Pathologies de la glande mammaire de la vache laitière. Aspect Individuel et d'élevage ; 5ème édition.
76. **Hanzen C.H., 2007.** Pathologie infectieuse de la glande mammaire. *Approche individuelle, Année 2007-2008*, 29 pages.
77. **Hanzen C.H., 2009.** Pathologie infectieuse de la glande mammaire. *Approche individuelle, Année 2009-2010*, 63 pages.
78. **Harlet M., 2012.** Mammites de la vache laitière : étude de l'efficacité d'un mélange d'huiles essentielles par application cutanée locale dans 34 élevages bretons. *Thèse de doctorat vétérinaire. Vet-Agro Sup, Lyon*, 144 p.
79. **He J.Z., Wang A.Q., Liu G., Gao J., Ali T., Han B., 2014.** Biofilm formation and biofilm associated genes assay of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in China. *Pakistan Veterinary Journal*, 34, 508-513.
80. **Heuer C., Schukken Y., Dobbelaar P., 1999.** Postpartum Body Condition Score and Results from the First Test Day Milk as Predictors of Disease, Fertility, Yield, and Culling in Commercial Dairy Herds. *Journal of Dairy Science*, 82(2), 295-304.
81. **Hogan J.S., Gonzalez R., Harmon R.J., Nickerson S.C., Oliver S.P., J.W., Pankey J.W., Smith K.L., 1999.** Laboratory Handbook on Bovine Mastitis, 1st edition, (*Natlional Mastitis Council, Inc., Madison, WI*).

- 82. Hogeveen H., Huijps K., Lam T.J., 2011.** Economic aspects of mastitis: New developments. *New Zealand Veterinary Journal*, 59(1), 16-23.
- 83. Timoney, J. F., Gillespie, J.H., Scott, F.W., Barlough, J.E., 1988..** Hugan and Burner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. *Cornell University Press Edition, Eighth edition*. 416-419.

I

-
- 84. Ito T., Okuma K., Ma X. X., Yuzawa H., Hiramatsu K., 2003.** Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. *Drug Resistance Updates*, 6(1), 41-52.

J

- 85. Jagielski T., Lagneau P.E., 2007.** Protothecosis. A pseudofungal infection. *Journal of Mycology Medecine*, 17, 261-70.
- 86. Javed S., Muhammad G., Saqib M., Hussain I., 2015.** Comparative prevalence of streak canal and intramammary microorganisms and their contemporaneous association in a dairy cow and buffalo herd lacking mastitis control program. *International Journal of Agriculture and Biology*, 17, 755-760.
- 87. Jeune D., 2011.** Pratique de médecines alternatives en élevage bovin français. *Thèse de doctorat vétérinaire. Vet-Agro Sup Lyon, France*, 51-62.
- 88. Jones I., 1980 ; cité par Dismukes W.E., Pappas P.G., Sobel J.D., 2003.** Clinical mycology. *Oxford University Press*, 416-419.
- 89. Julia L., 2017.** Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. *Thèse de docteur en pharmacie, Université Paul Sabatier Toulouse III*, 219 p.

K

- 90. Kalmus P., Aasmäe B., Kärssin A., Orro T., Kask K., 2011.** Udder pathogens and their resistance to antimicrobial agents in dairy cows in Estonia. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53, 7 pages.

- 91. Kammerer M., Pinault L., 2001.** Thérapeutique en élevage biologique. *Bulletin des Groupements techniques vétérinaires–Hors-série Agriculture biologique*, p. 121-126.
- 92. Kebbal S., Hanzen C., Guetarni D., 2010.** Estimation des pertes et impact économique des mammites en élevage bovin laitier dans la région de Blida. In : *Recueil des 3èmes Journées d'Epidémiologie Animale, Blida, Algérie*, (Institut des sciences vétérinaires, Blida- Algérie), pp 52-58.
- 93. Khan M., Ahmad I., 2011.** Antibiofilm activity of certain phytochemicals and their synergy with fluconazole against *Candida albicans* biofilms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(3), 618-621.
- 94. Kidd S., Halliday C., Alexiou H., Ellis D., 2016.** Descriptions of medical fungi. *Third Edition*, 266 pages.
- 95. Kirck J.H., Sischo W.M., 2003.** Case report- An investigation of dairy cow teat lesions and clinical mastitis. *The bovine practitioner*, 37(1), 30-34.
- 96. Kirk J.H., Bartlett P.C., 1986.** Bovine mycotic mastitis. *Comp Food Animal*, 8,106- 110.
- 97. Koenig H., 1995.** Guide de mycologie médicale. *Ellipses Edition*, 96 pages.
- 98. Krukowski H., Tietze M., Majewski T., Rózanski P., 2000.** Survey of yeast mastitis in dairy herds of small-type farms in the Lublin region, Poland. *Mycopathologia*, 150: 5-7.
- 99. Ksouri S., 2008.** Contribution à l'étude des mammites fongiques des bovins dans deux élevages laitiers de la région de Guelma. *Thèse de Magistère en Médecine Vétérinaire, El Taref*, 184 pages.
- 100. Ksouri S., Djebir S., Hadeif Y., Benakhla A., 2015.** Survey of Bovine Mycotic Mastitis in Different Mammary Gland Statuses in Two North-Eastern Regions of Algeria. *Mycopathologia*, 179(3-4), 327-331.

L

-
- 101. Labre P., 2012.** Médecines naturelles en élevage : Phytothérapie et aromathérapie chez les ruminants et le cheval. Deuxième édition. Thônes : *Editions Femenvet*, 352 p.
- 102. Lagneau P. E., Lebtahi K., Swinne D., 1996.** Isolation of yeasts from bovine milk in Belgium. *Mycopathologia*, 135: 99-102.

103. **Lassa H., Malinowski E., 2007.** Resistance of yeasts and algae isolated from cow masitic milk to antimicrobial agents. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 51, 575-578.
104. **Lefevre C., Kammerer M., Le Guenic M., Roussel P., Linclau O., Cartaud G., Tainturier D., Larrat M., Bareille N., 2008.** Le traitement des mammites cliniques de la vache laitière par des huiles essentielles, *Innovations Agronomiques*, (4), 79-83.
105. **Loftsgard G., Lindquist K., 1960 ; cité par Spanamberg A., Wunder Jr.E.A, Pereira D.I.B., Argenta J., Sanches E.M.C., Valente P., Ferreiro L., 2008.** Diversity of yeasts from bovine mastitis in Southern Brazil. *Revista Iberoamericana de Micología*, 25, 154-156.
106. **Loker S., Miglior F., Koeck A., Neuenschwander T., Bastin C., Jamrozik J., Schaeffer L., Kelton D., 2012.** Relationship between body condition score and health traits in first-lactation Canadian Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 95(11), 6770-6780.
107. **Lopes M.M., Ribeiro R., Carvalho D., Freitas G., 2008.** *In vitro* susceptibility of *Prototheca spp.* isolated from bovine mastitis in a Portugal dairy herd. *Journal de mycology medicale*, 18, 205-209.

M

-
108. **Mbuk E.U., Kwaga J.K.P., Bale J.O.O., Umoh J. U., 2016.** Molecular identification of yeasts associated with raw cow milk from peri-urban farms in Kaduna State, Nigeria. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 7(5), 39-46.
109. **Mein G.A, Neijenhuis G., Morgan W.F, 2001.** Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 1. Non infectious factors. *Proc. second international symposium on mastitis and milk quality. Vancouver, BC, Canada*, 347-351.
110. **Millet F., 2010.** Les formes galéniques et les huiles essentielles. *Phytothérapie*, 8, 33–36.
111. **MoARD., 2011.** Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). 6ème édition 2011. Ministry of Agriculture and Rural Development, Ministry of Health, Population and Hospital Reform (Democratic and Popular Republic of Algeria), p. 184-185.
112. **Moretti A, Pasquali P, Mencaroni G, Boncio L, Piergili F., 1998.** Relationship between cell counts in bovine milk and the presence of mastitis pathogens (yeasts and bacteria).

Zentralbl Veterinarmed B. 1998, 45, 129–32.

- 113. Morin, 1994 ; cité par Tabuc C., 2007.** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. *Thèse de Doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest*, 190 pages.

N

-
- 114. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), 1999.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Test, 9th International Supplement. M100-S9, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- 115. Neave F.K., Dodd F.H., Kingwill R.G., 1966.** A method on controlling udder disease. *Veterinary Records*, 78, 521–725.
- 116. Neijenhuis F., Barkema H.W., Hogeveen H., Noordhuizen J.P., 2000.** Classification and longitudinal examination of callused teat ends in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 83(12), 2795–2804.
- 117. Niyo K.A., Richard J.L., Niyo Y., Tiffany L.H., 1988 ; cités par Whitlow L.W., Hagler M.W., non daté.** Mycotixin Effects in Dairy Cattle. *North Carolina State University, Raleigh, NC*, 6 pages.

P

-
- 118. Paduch J-H., Mohr E., Krömker V., 2012.** The association between teat end hyperkeratosis and teat canal microbial load in lactating dairy cattle. *Veterinary Microbiology*, 158(3-4), 353-359.
- 119. Pankey J.W., 1989.** Premilking udder hygiene. *Journal of Dairy Science*, 72, 1308–1312.
- 120. Paris R., Moyse H., 1965.** Précis de matière médicale. *Editions Masson et Curie. Tome 1*, 416 p.
- 121. Pengov A., 2002.** Prevalence of mycotic mastitis in cows. *Acta Veterinaria (Beograd)*, 52, (2-3), 133-136.
- 122. Perez V., Copra J. M., Garcia- Marin J.F., Aduri J.J., Jensen H.E., 1998.** Mammary and systemic Aspergillosis in dairy sheep. *Veterinary Pathology*, 35, 235-240.
- 123. Pincus D.H., Orenga S., Chantellier S., 2007.** Yeast identification-past, present, and

future methods. *Medical Mycology*, 45(2), 97-121.

124. **Philpot, W.N., 1979.** Control of Mastitis by Hygiene and Therapy. *Journal of Dairy Science*, 62(1), 168-176.
125. **Pinto E., Vale-Silva L., Cavaleiro C., Salgueiro L., 2009.** Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*, 58, 1454–1462
126. **Pol M., Ruegg P.L., 2007.** Relationship between antimicrobial drug usage and antimicrobial susceptibility of gram-positive mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science*, 90, 262–273.
127. **Ponter A., Remy D., Grimard B., 2013.** Prévention nutritionnelle des troubles de la reproduction chez la vache laitière. *Le point Vétérinaire*, (Prévention nutritionnelle en élevage bovin), 68-76.
128. **Ponce A.G., Fritz R., Del Vall C.E., Roura S.I., 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 36, 679–684.
129. **Pounden W.D., Amberson J.M., Jaeger R.F., 1952.** A severe mastitis problem associated with *Cryptococcus neoformans* in a large dairy herd. *American Journal of Veterinary Research*, 13(1952) 121.
130. **Pozzatti P., Scheid L., Spader T., Atayde M., Santurio, J., Alves S., 2008.** *In vitro* activity of essential oils extracted from plants used as spices against fluconazole-resistant and fluconazole-susceptible *Candida spp.* *Canadian Journal of Microbiology*, 54(11), 950-956.

Q

-
131. **Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J., Leonard F.C., 2002.** Veterinary Microbiology and Microbial Disease. *Ed. Wiley-Blackwell*, 504 pages.
132. **Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C., Hartigan P., Fanning S., Fitzpatrick E.S., 2011.** Veterinary microbiology and microbial disease, 2nd edition, (*Wiley-Blackwell, London*).

R

133. **Radelli L., 1957 ; cité Fortier G., 1990.** Mammmites mycosiques des bovines, flore fongique du lait, pathogénie et moyen de lutte. *Thèse de Médecine Vétérinaire, Alfort*, 145 pages.
134. **Radostits O.M., Blood D.C., Gay C.C., 1994.** Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. *Hardcover-Older Edition. Huitième édition*, 1763 pages.
135. **Reiss B., Kubena R., Young L.G., 1982 ; cités par Dismukes W.E., Pappas P.G., Sobel J.D., 2003.** Clinical mycology. *Oxford University Press*, 416-419.
136. **Renau J.K., Seykora A.J., Heins B.J., 2003.** Relationship of cow hygiene scores and SCC. In *Proc. National Mastitis Council, Madison, WI*.362-363.
137. **Romani L., 2004 ; cité par Blonco J.L., Garcia M.E., 2008.** Immune response to fungal infections. *Veterinary immunology and immunopathology*, 125, 47-70.
138. **Ruegg, P. L., Milton R. L., 1995.** Body condition scores of Holstein cows on Prince Edward Island, Canada: Relationships with yield, reproductive performance, and disease. *Journal of Dairy Science*, 78, 552.
139. **Ruegg, P. L., 2002.** Udder hygiene scoring chart. *Resources Milk Quality*.

S

-
140. **Saidi S., Khelef D., Kaidi R., 2010.** Evaluation d'un test de dépistage précoce des mammmites subcliniques des vaches. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 63 (3-4), 57-61.
141. **Saidi S., Khelef D., Kaidi R., 2012.** Prevalence of bovine subclinical mastitis and antibiotics susceptibility profiles of isolates. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11 (22), 4990-4997.
142. **Saidi, R., Khelef, D., Kaidi, R., 2013.** Subclinical mastitis in cattle in Algeria: Frequency of occurrence and bacteriological isolates. *Journal of the South African Veterinary Association*, 84(1), 929, 5 pages.
143. **Sanchez A.G., Perez J.R., Carillo-Munoz A.J., Anaya M.C.G., Mendoza J.H.,**

- Rodriguez J.M.A.1996; cité par Lassa H., Malinowski E., 2007. Resistance of yeasts and algae isolated from cow masitic milk to antimicrobial agents. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 51, 575- 578.
144. Santos R.C., Marin J.M., 2005. Isolation of *Candida spp.* from mastitic bovine milk in Brazil. *Mycopathologia*, 15, 251–253.
145. Schallibaum M., Nicolet J., Konig H., 1980. *Aspergillus nidulans* and *Aspergillus fumigatus* as causal agents of bovine mastitis. *Sabouraudia*, 8, 33–8.
146. Schreiner D.A., Ruegg P.L., 2003. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 86(11), 3460-3465.
147. Schutz M.M., 1993. Genetic evaluation of somatic cell scores for United States dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 77, 2113–2129.
148. Segretain G., Drouhet D., Mariat F., Malones S.A., 1974. Diagnostique de laboratoire en mycologie médicale. *Editeur Paris*, pages 7-44.
149. Segundo-Zaragoza C.S., Cervantes Olivares R.A., Ducoing Watty A.E., De La Pena Moctezuma A., Tanaca L.V., 2011. Yeasts isolation from bovine mammary glands under different mastitis status in the Mexican High Plateau. *Revista Iberoamericana de Micología*, 28(2), 79–82.
150. Selles S.M.A., Kouidri M., Ait Amrane A., Belhamiti B.T., Drideche M., Hammoudi S. M., Boukrâa L., 2017. Chemical composition and antibacterial activity of *Cinnamomum aromaticum* essential oil against four enteropathogenic bacteria associated with neonatal calve's diarrhea. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances.*, 12, 24-30.
151. Selles S.M.A., 2019. Diarrhée néonatale du veau et son traitement par les plantes médicinales et les produits de la ruche. *Thèse de Doctorat en Sciences, Université Mustapha Stambouli, Mascara*, 161 p.
152. Sharif A., Muhammad G., 2009. Mastitis control in dairy animals. *Pakistan Veterinary Journal*, 29 (3), 145-148.
153. Sillett N., Moore A., Haupstein D., Tremblay P., Robinson S., Taylor T., Skerritt M., Lévesque P., Anderson D., Esau C., Sampson R., 2003. Les Producteurs laitiers du Canada.

Édition 2003. 181p.

154. **Singh M., Gupta P. P., Rana J. S., Sodhi S., Sood N., 1994.** Biochemical changes in milk in cryptococcal mastitis of experimental goats. *Indian. Journal of Dairy Science*, 47, 1043-1049.
155. **Smith K.L., Hogan J.S., 1993.** Environmental mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 9(3), 489-98.
156. **Sol J., Sampimon O., Snoep J., Schukken Y., 1997.** Factors associated with bacteriological cure during lactation after therapy for subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science*, 80, 2803-2808.
157. **Spanamberg A., Wunder Jr.E.A, Pereira D.I.B., Argenta J., Sanches E.M.C., Valente P., Ferreiro L., 2008.** Diversity of yeasts from bovine mastitis in Southern Brazil. *Revista Iberoamericana de Micología*, 25, 154-156.
158. **Still P., Wei R.D., Smalley E.B., Strong F.M., 1972 ; cité par Whitlow L.W., Hagler M.W., non daté.** Mycotixin Effects in Dairy Cattle. *North Carolina State University, Raleigh, NC*, 6 pages.
159. **Suhyla T., Seyhan K., 2010.** The slime production by yeasts isolated from subclinical mastitic cows. *Acta Veterinaria Brno*, 79, 581-586.

T

-
160. **Tabuc C., 2007.** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. *Th. Doc. Institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest*, 190 pages.
161. **Taleb-Toudert K., 2015.** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur le bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). *Thèse de magistère, Université de Tizi-Ouzou*, 160 p.
162. **Thompson K.G., Menna M.E., Carter M.E., Carman M.G., 1978 ; cité Fortier G., 1990.** Mammmites mycosiques des bovines, flore fongique du lait, pathogénie et moyen de lutte. *Thèse de Médecine Vétérinaire, Alfort*, 145 pages.

163. **Timoney, J. F., Gillespie, J.H., Scott, F.W., Barlough, J.E., 1988.** Hagan and Burner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. *Cornell University Press Edition, Eighth edition*. 416-419.
164. **Tras, B., Yazar, E. and Elmas, M., 2007.** Practical and rational drug use in veterinary profession. *Olguo Press, Konya, Turkey*, 29-89
165. **Turutoglu H., Ercelik S., Ozturk D., 2006.** Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 50, 41-45.

U

-
166. **Unlu M., Ergene E., Unlu G., Zeytinoglu H., Vural, N., 2010.** Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (*Lauraceae*). *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3274-3280.

W

-
167. **Wang L., Wang Z-M., Li T-C., Zhou X., Ding L., Zhang H-Q., 2008.** Rapid extraction and analysis of essential oil from *Cinnamomum cassia*. *Chemical Research in Chinese Universities*, 24(3), p. 275–280.
168. **Ward W.R., Hughes J.W., Faull W.B., Cripps P.J., Sutherland J.P., Sutherst J.E., 2002.** Observational study of temperature, moisture, pH and bacteria in straw bedding, and faecal consistency, cleanliness and mastitis in cows in four dairy herds, *Veterinary Records*, 151, 199– 206.
169. **Wawron W., Bochniarz M., Szczubiał M., 2011.** Enzymatic activity of yeasts isolated from the inflamed mammary secretion in dairy cows. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 14(1).
170. **Weight U., 1984 ; cité par Fortier G., 1990.** Mammities mycosiques des bovines, flore fongique du lait, pathogénie et moyen de lutte. *Thèse de Médecine Vétérinaire, Alfort*, 145 pages.
171. **Weight U., 1991.** Rarely Occuring causal agents of bovine mastitis. *Prakt. Tier*, 72, 3639.
172. **Weight U., Alhers D., 1982.** Aetiology, symptoms and treatment of yeast mastitis in cattle.

Deut. Tier. Woch., 89 (6), 234-238.

- 173. Werckenthin C., Cardoso M., Martel J.L., Schwarz S., 2001.** Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus*, and canine *Staphylococcus intermedius*. *Veterinary Research*, 32, 341-362.
- 174. Whitlow L.W., Hagler M.W., non-daté.** Mycotixin Effects in Dairy Cattle. *North Carolina State University, Raleigh, NC*, 6 p.
- 175. Yeo G., Choi W.P., 1982.** Studies on yeast-like fungi associated with bovine mastitis, 1: epidemiological study; 2: sensitivity of yeast like fungi to antifungal agents. *Korean Journal of Veterinary Research*, 22, 121–124.

Z

-
- 176. Zhou Y., Ren Y., Fan C., Shao H., Zhang Z., Mao W., Wei C., Ni H., Zhu Z., Hou X., Piao F., Cui Y., 2013.** Survey of mycotic mastitis in dairy cows from Heilongjiang Province, China. *Tropical Animal Health and Production*, 45(8), 1709-1714.
- 177. Zhu H., Du M., Fox L., Zhu M., 2016.** Bactericidal effects of *Cinnamon cassia* oil against bovine mastitis bacterial pathogens. *Food Control*, 66, 291-299.
- 178. Ziv G., Storper M., 1985.** Intramuscular treatment of subclinical staphylococcal mastitis in lactating cows with penicillin G, methicillin and their esters. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 8, 276-283.

(ANNEXE 1)

Questionnaire destiné au vétérinaire/technicien de la ferme :

Date de la visite :

➤ **Nom de la ferme :**

➤ **Localisation de la ferme :**

➤ **Nombre des vaches :**

➤ **Race :**

➤ **L'Alimentation :**

Aliments utilisés :

-

La composition de la ration :

-

Mode de distribution des aliments :

-

Nombre des repas par jour :

-

Ordre de distribution des aliments :

-

Abreuvement : - A volonté

-Autre :

Source de l'eau d'abreuvement : -Puits

-Robinet

-Autre :

Est-ce que les vaches sont alimentées après la traite pour les encourager à rester debout ? Oui / Non

La qualité des aliments : - Moisis / Non moisis

Les conditions du stockage des aliments:

- *Aération* : Bonne / Mauvaise

- *Température* : élevée / Optimum / diminuée

- *Humidité* : Bonne / Mauvaise

➤ **L'environnement :**

Hygiène de l'étable : - Quotidienne

- Hebdomadaire

- Mensuelle

- Autres :

Type de litière : - Béton

-Sable

- Terre

-Paille

- Sciure, copeaux de bois

-Autre:

Est-ce que la litière est propre (peu de matières fécales) et sèche ? Oui / Non

Renouvellement de la litière : -Journalière

- 2 fois par jour

- Autre :

Présence de piégeons dans l'environnement ? Oui / Non

➤ **Les mammites mycosiques :**

Le dépistage des mammites subcliniques : Oui / Non

Vaches, qui le plus souvent ont des mammites cliniques ? -Taries

- Primipares

-Hautes productrices

-Toujours les mêmes vaches

Le moment d'apparition des mammites cliniques ? -Début de lactation

-Milieu de la lactation

- Fin de lactation

- Tariessement

-Combinaison.

Type de traite : Manuelle / Mécanique

Le personnel responsable de la traite et de l'hygiène de la mamelle :

Mêmes personnes / Différentes

Lavage des mains avant la traite : Oui / Non

Lavage et désinfection de la mamelle avant la traite : Oui / Non

Le désinfectant utilisé pour la désinfection de la mamelle : -.....

Lavettes utilisées pour l'essuyage de la mamelle : Individuelle / Collective

Est-ce que les premiers jets de lait sont tirés et observés pour la présence de caillots ?

Oui / Non

Lavage des mains après la fin de la traite : Oui / Non

Nettoyage de la machine de traite : Oui / Non

Désinfection des gobelets trayeurs: -Après chaque traite

-1 fois par jour

-1 fois par semaine -1 fois par mois

- Jamais

-Autre :

Remplacement et entretien des manchons trayeurs : Oui / Non
Présence de fissures au niveau des manchons trayeurs : Oui / Non
Durée de la traite : -

Traitement des mammites :

Traitement antibiotique au début du tarissement : Oui / Non

Produits utilisés : -

Traitement des mammites par : Le vétérinaire / Le technicien / Les trayeurs

Hygiène de la mamelle avant le traitement : Oui / Non

Mammites rebelles au traitement antibiotique : Oui / Non ; combien de cas :

Recours à l'analyse microbiologique en cas de mammites rebelles : Oui / Non

Recours à l'antibiogramme : Oui / Non

Est-ce que vous avez pensé aux mammites fongiques ? Oui / Non

Confirmation par un laboratoire spécialisé ? Oui / Non

➤ **Les veaux :**

Soins post natal des veaux : Oui / Non

Sont-ils séparés de leurs mères ? Oui / Non

L'âge au sevrage :

Sont-ils nourris au : Lait maternel / Lactoreplaceurs

Existe-il une maternité ? : Oui / Non

La fréquence des cas de diarrhée : Elevée / Moyenne / Diminuée

Traitement des diarrhées :

Efficacité du traitement :

La fréquence des cas de stomatite (Muguet) : Elevée / Moyenne / Diminuée

Traitement des stomatites:

Efficacité du traitement :

(ANNEXE 2)

Fiche d'examen clinique (Partie 1) :

Date de la visite :

➤ **Nom de la ferme :**

➤ **Localisation de la ferme :**

➤ **Numéro de la vache :**

➤ **Race :**

➤ **L'âge :**

➤ **Stade physiologique :** -Début de lactation

-Milieu de lactation

- Fin de lactation

- Tariessement

- Autre :

➤ **L'état général :**

L'état d'embonpoint : - Bon

-Moyen

- Mauvais

Température : C°

Pouls : Pulsations/ min

Fréquence respiratoire :mouvements respiratoires/ min

Activité ou motilité du rumen :mouvements / 5 min

Aspect des muqueuses : -Normal

-Anormal :

L'hygiène de l'animal :

D'autres observations:

➤ **Mamelle et sécrétions mammaires :**

Aspect général : Normal / Anormal

Déséquilibre de la mamelle : Présence / Absence

Trayons surnuméraires : Oui / Non

Si Oui, localisation :

Quartier antérieur droit	Quartier antérieur gauche
Agalaxie : oui /non ; si oui : définitive /pendant l'incubation Douleur, chaleur : oui /non La présence des nodules durs : oui /non / rare taille..... Adénite : oui / non Lésions :..... Aspect du lait : normal / anormal Aspect du trayon : normal / anormal Lésions du trayon :..... Note de l'orifice du trayon : 1 / 2 / 3 / 4 / 5 Antécédent de mammite : Autres observations :..... Numéros d'identification des prélèvements : ❖ Avant la traite : ❖ La fin de la traite :.....	Agalaxie : oui /non ; si oui : définitive /pendant l'incubation Douleur, chaleur : oui /non La présence des nodules durs : oui /non / rare taille..... Adénite : oui / non Lésions :..... Aspect du lait : normal / anormal Aspect du trayon : normal / anormal Lésions du trayon :..... Note de l'orifice du trayon : 1 / 2 / 3 / 4 / 5 Antécédent de mammite : Autres observations :..... Numéros d'identification des prélèvements : ❖ Avant la traite : ❖ La fin de la traite :.....
Quartier postérieur droit	Quartier postérieur gauche
Agalaxie : oui /non ; si oui : définitive /pendant l'incubation Douleur, chaleur : oui /non La présence des nodules durs : oui /non / rare taille..... Adénite : oui / non Lésions :..... Aspect du lait : normal / anormal Aspect du trayon : normal / anormal Lésions du trayon :..... Note de l'orifice du trayon : 1 / 2 / 3 / 4 / 5 Antécédent de mammite : Autres observations :..... Numéros d'identification des prélèvements : ❖ Avant la traite : ❖ La fin de la traite :.....	Agalaxie : oui /non ; si oui : définitive /pendant l'incubation Douleur, chaleur : oui /non La présence des nodules durs : oui /non / rare taille..... Adénite : oui / non Lésions :..... Aspect du lait : normal / anormal Aspect du trayon : normal / anormal Lésions du trayon :..... Note de l'orifice du trayon : 1 / 2 / 3 / 4 / 5 Antécédent de mammite : Autres observations :..... Numéros d'identification des prélèvements : ❖ Avant la traite : ❖ La fin de la traite :.....

ANNEXE 3

Fiche d'examen clinique (Partie 2) :

Race				
Âge				
Etat de propreté de la mamelle :				
Le trayon atteint :	AD ☐	AG ☐	PD ☐	PG ☐
Le score lésionnel du trayon:	AD ☐	AG ☐	PD ☐	PG ☐
Type de la traite :				
Mécanique	☐			
Manuelle	☐			
Nombre de la lactation :				
Primipare	☐			
Multipare	☐			
Mois de la lactation :				
Conditions d'hygiène :				
Bonne	☐			
Moyenne	☐			
Salie	☐			
Forme de mammite :				
Subclinique	☐	CMT	☐	
Clinique	☐			
Signe :				
Modification du lait	☐	signes locaux	☐	signes généraux
	☐		☐	☐