

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Alimentaire
Spécialité : Production et transformation laitière

Thème : Contribution à l'étude des mammites subcliniques dans un élevage de bovin laitier de la région de Guelma

Présenté par :

AMRANE Nada
DRIDI Ines
FENAZ Ahmed Wassim
KACI Housseem Eddine

Devant le jury composé de :

| | | |
|--------------------------------|--------|----------------------|
| Président : Mme. BENRBIHA R.S. | M.A.A. | Université de Guelma |
| Examineur : Dr. DJEBIR S. | M.C.B | Université de Guelma |
| Encadreur : Dr. KSOURI S. | M.C.A. | Université de Guelma |

Juin 2022

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous tenons particulièrement à remercier, notre créateur Dieu le tout puissant que nous avons donné le courage, et la volonté pour élaborer et finaliser ce modeste travail.

*Nous remercions notre encadreur **Dr. KSOURI Samir** pour ses efforts et sa disponibilité, durant l'élaboration de ce projet. Nous tenons à lui exprimer toute nos reconnaissance, tant pour ses conseils, son intérêt et sa vaste culture que pour la confiance qu'il nous avons accordé pendant ce projet de recherche, et ce malgré tous ces aléas et difficultés.*

*Nous remercions également **Mme. BENRBIHA R.S.**, d'avoir accepté de présider ce jury et **Dr. DJEBIR S.**, qui nous a consacré son temps afin d'évaluer notre travail, c'est un grand honneur pour nous.*

*Nos sentiments de remerciement aussi chaleureux qu'affectueux au M. le directeur **Ben Makhlouf Hamza** et **Ragouli Fatiha**, **Bouchra Belaaz**, **Abd El Malek Nicib**, **Ammar Azouz**. et les responsables de la ferme **Mekhancha Nafaa**.*

Nos sincères remerciements vont à tous les enseignants de la spécialité de Production et transformation laitière pour leurs précieux conseils, et tous les enseignants de notre Faculté, et les responsables des laboratoires pédagogiques.

Nous exprimons tous le bonheur du monde à nos collègues de la promotion sortante 2022 du Master Production et transformation laitière.

Enfin, profonds gratitudes à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce document.

DEDICASE

Ce modeste travail est dédié :

*A mon exemple éternel, mon soutien moral, à celui qui s'est toujours sacrifié
pour me voir grandir et réussir, que dieu te garde et te protège
mon très cher Père.*

*A la lumière de mes jours, source de joie et de bonheur source de mes efforts, la
flamme de mon cœur, de ma vie et de mon bonheur,
Maman que j'adore.*

*A toutes les personnes que j'aime et plus particulièrement, à mes sœurs « Imane,
Amína », et mon cher frère « Mohamed nadir »*

A mes amours Layan et Bilel

*Dont le grand privilège leurs revient en premier lieu pour leurs conseils,
assistance, et encouragements,*

Je dédie particulièrement ce travail aux familles

« Amrane et Ragouli »

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, Docteur Atamnia mohamed

Aux frères et sœurs

*que ma mère n'a pas mis au monde, mes aimables amis (Mohamed cherif,
Chakib, Aymen, akram, Seif, Djo, Chahinez, Rayen, Ghouzlane, Koukou, Imane)
qui étaient toujours là à mes Côtés, et à ceux qui ont partagé ce travail avec ceux
qui ont travaillé et regardé ensemble, pour le faire ressortir de la plus belle
manière (wassim, ines, houssem), A tous les amis de l'étude qui ont étudié avec eux
(Sidou, zakí ...), et Sans oublier la famille sportive.*

*A tous ceux qui se souviennent de mon cœur et n'ont pas écrit ma plume et
à tous mes proches et tous mes proches sans exception à tous ceux qui m'ont
souhaité le succès et m'ont aidé de près ou de loin et j'espère que Dieu rendra
mon travail utile.*

*** Amrane Nada ***

DEDICASE

Ce modeste travail est dédié :

- ❖ A mon exemple éternel, mon soutien moral, source de joie et de bonheur, à celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir grandir et réussir, que dieu te garde et te protège mon *très cher Père*.
- ❖ A la lumière de mes jours, source de mes efforts, la flamme de mon cœur, de ma vie et de mon bonheur, *Maman que j'adore*.
- ❖ A toutes les personnes que j'aime et plus particulièrement, à mes chères sœurs
«*Chaïma , Isra* »

Dont le grand privilège leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, assistance, et encouragements,

- ❖ Je dédie particulièrement ce travail aux familles

« *Fenaz* »

- ❖ Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, Aux frères que ma mère n'a pas mis au monde, mes aimables amis (*Abd el Nour, Lotfi, Sohaybe , Amer, Walid ,Amine, Bilel, Oussama , Achref, Houcine*) qui étaient toujours là à mes Côtés, et à ceux qui ont partagé ce travail avec ceux qui ont travaillé et regardé ensemble, pour le faire ressortir de la plus belle manière (*Nada , Housseem , Ines*)
- ❖ A tous les amis de l'étude qui ont étudié avec eux (*Dayaa ,Hamza ,Adbou*)
- ❖ A tous ceux qui se souviennent de mon cœur et n'ont pas écrit ma plume et à tous mes proches et tous mes proches sans exception à tous ceux qui m'ont souhaité le succès et m'ont aidé de près ou de loin et j'espère que Dieu rendra mon travail utile.

*****AHMED WASSIM*****

DEDICASE

Je dédie ce modeste travail :

A MA TRES CHERE MERE

Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta Bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie.

Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais exprimer ma grande Affection et ma profonde reconnaissance. J'espère ne jamais te décevoir, ni trahir ta confiance et tes sacrifices.

Puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et Bonheur.

A MON TRES CHER PERE

De tous les pères, tu es le meilleur.

Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités Humaines, ta persévérance et perfectionnisme.

En témoignage de brut d'années de sacrifices, de sollicitudes, D'encouragement et de prières.

Pourriez-vous trouver dans ce travail le fruit de toutes vos peines et Tous de vos efforts.

En ce jour, j'espère réaliser l'un de tes rêves.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects, ma reconnaissance et mon profond amour.

Puisse Dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur.

A mes très chers frères Med Cherif et Yassine

*A tous les moments d'enfance passés avec mes frères, en gagent de ma profonde estime pour l'aide que vous m'avez apporté, vous m'avez soutenu, réconforté et encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus , et leur familles et ses enfant **Lilyan** et **Med Djassime** et **Rahaf** qui jouent le rôle efficace par leur sourire , Puisses dieu vous donne santé, bonheur et courage .*

A MA chère SCEUR Imene

Une sœur comme on ne peut trouver nulle part ailleurs,

Puisse Allah te protéger, garder et renforcer notre fraternité.

A mes quadri nôme NADA WASSIM et HUSSEM

pour ses soutiens moraux , ses patiences et ses compréhensions tout au long ce projet A mes amies Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur. je vous dis merci.

***** DRIDI INES *****

DEDICASE

Ce modeste travail est dédié :

*A mon exemple éternel, mon soutien moral, source de joie et de bonheur,
à celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir grandir et réussir, que dieu te
garde et te protège mon très cher Père.*

*A la lumière de mes jours, source de mes efforts, la flamme de mon cœur,
de ma vie et de mon bonheur, Maman que j'adore (Nouwarti).*

*A toutes les personnes que j'aime et plus particulièrement, à mes frères «
Mohamed, Djallal, Seif Enour » , mes sœurs « Salîha , Marwa , Aïcha »*

Et aux plus belles filles «Nour Sîne , Nour Djinane , Lîne »

*Dont le grand privilège leurs revient en premier lieu pour leurs conseils,
assistance, et encouragements.*

Je dédie particulièrement ce travail aux familles

«KACI»

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, Aux frères
Que ma mère n'a pas mis au monde, mes aimables amis*

*, et à ceux qui ont partagé ce travail avec ceux qui ont travaillé et
regardé ensemble, pour le faire ressortir de la plus belle manière
(Wassim , Nada , Ines) A tous les amis de l'étude qui ont étudié avec eux ,et
Sans oublier la famille musicale.*

*A tous ceux qui se souviennent de mon cœur et n'ont pas écrit ma plume et
à tous mes proches et tous mes proches sans exception à tous ceux qui m'ont
souhaité le succès et m'ont aidé de près ou de loin et j'espère que Dieu rendra
mon travail utile.*

****HOUSSEM EDDINE****



Sommaire

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

Etude pratique

| | |
|--|----|
| I. MATERIEL ET MÉTHODES | 5 |
| I.1. Matériel | 5 |
| I.1.1 Présentation de la ferme pilote Mekhancha Nafaa : | 5 |
| I.1.2 Animaux et période d'étude..... | 6 |
| I.1.3. Matériels d'échantillonnage..... | 6 |
| I.1.4. Matériels et produits utilisés dans le laboratoire d'analyse :..... | 6 |
| I.2 Méthodes | 8 |
| I.2.1 Evaluation de la saleté de stabulation | 8 |
| I.2.2 Méthode de CMT (California Mastitis Test) | 9 |
| I.2.3 Prélèvement de lait..... | 10 |
| I.2.4 Méthode d'échantillonnage..... | 10 |
| I.3 Choix de milieux de cultures | 10 |
| I.3.1 Méthode d'analyse Microbiologique..... | 11 |
| I.4.1. Méthode d'identification des bactéries..... | 11 |
| I.4.1.1. Coloration de Gram | 11 |
| I.4.2 Méthode d'identification des champignons..... | 14 |
| I.4.3 Lecture | 14 |
| I.4.4 Repiquage | 14 |
| I.5 Moisissures | 15 |
| I.6 L'aspect macroscopique | 15 |
| I.7 Levures | 15 |
| I.7.1 Milieu à base de crème de riz (Rie Cream) | 15 |
| I.7.2 Milieu à l'Urée Indol | 15 |

Résultats et Discussion

| | |
|---|----|
| II. Résultats | 18 |
| II.1 Résultat de la propriété de stabulation | 18 |

| | |
|--|-----------|
| II.2 Pratique d'élevage et de la traite | 18 |
| II.3 Résultats de dépistage des mammites subcliniques..... | 19 |
| II.3.1 Prévalence des mammites subcliniques | 19 |
| II.3.2 Résultats des mammites subcliniques selon le score CMT..... | 19 |
| II.4 Prévalence des mammites subcliniques selon l'origine..... | 21 |
| II.5 Etude de la répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de quelques paramètres épidémiologiques..... | 23 |
| II.5.1 Répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la race..... | 24 |
| II.5.2 Répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la position de quartier | 25 |
| II.5.3 Répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction des vaches primipares et des vaches multipares | 26 |
| II.5.4 Répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes selon le mois de lactation..... | 27 |
| II.6 Résultats des analyses microbiologiques..... | 28 |
| II.7. Résultats des mammites subcliniques microbiennes mixtes..... | 30 |
| II.8 Distribution des cas de mammite subclinique positifs à la microbiologie selon le score CMT..... | 30 |
| III. Discussion | 33 |
| Conclusion..... | 39 |
| Références bibliographiques | 42 |
| Annexes | |
| المخلص | |
| Abstract | |
| Résumé | |

Liste des figures

| N° | Titre | Page |
|-----------|---|-------------|
| 1 | Note de saleté des vaches pour l'appréciation de la propreté de la mamelle et de la cuisse (Faye et Barnouin, 1985) | 8 |
| 2 | Méthode d'isolement des principaux germes rencontrés dans notre étude. | 13 |
| 3 | Démarche d'analyses mycologiques adoptées au laboratoire d'analyse. | 16 |
| 4 | Fréquence (%) des quartiers testés selon leur score CMT | 20 |
| 5 | Prévalence (%) des vaches et des échantillons positifs aux analyses microbiologiques | 22 |
| 6 | Prévalence des mammites subcliniques selon l'étiologie | 23 |
| 7 | Fréquence (%) de distribution des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la race des animaux | 24 |
| 8 | Fréquence (%) de cas de mammites subcliniques microbiennes selon la localisation des quartiers | 25 |
| 9 | Fréquence (%) de distribution des cas de mammites subcliniques en fonction des vaches primipares ou multipares | 26 |
| 10 | Fréquence (%) de distribution des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de mois de lactation | 27 |
| 11 | Taux (%) des espèces microbiennes isolées à partir de lait de mammite subclinique | 29 |
| 12 | Fréquence (%) des cas de mammite subclinique positifs à la microbiologie selon le score CMT | 32 |

Liste des tableaux

| N° | Titre | Page |
|-----------|---|-----------|
| 1 | Appréciation de la propreté de l'étable d'après Faye et Barnouin (1985). | 8 |
| 2 | Score CMT de lait individuel d'après Schalm et Noolander (1957) et Schneider <i>et al.</i> (1966). | 9 |
| 3 | Notes moyennes de saleté des vaches dans l'exploitation étudiée. | 18 |
| 4 | Prévalence des mammites subcliniques dans l'exploitation d'étude | 19 |
| 5 | Répartition du nombre de quartiers testés selon les scores CMT | 20 |
| 6 | Effectif et nombre des échantillons de lait de mammite subclinique positif aux analyses microbiologiques | 21 |
| 7 | Nombre d'échantillon de lait positif selon l'origine | 22 |
| 8 | Nombre des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la race des animaux | 24 |
| 9 | Répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la localisation des quartiers | 25 |
| 10 | Nombre des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction des vaches primipares ou multipares | 26 |
| 11 | Nombre des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de mois de lactation | 27 |
| 12 | Espèces de microbe isolé des échantillons de lait de mammite subclinique dans l'exploitation étudiée | 28 |
| 13 | Nombre des espèces bactériennes associées avec les champignons responsable des mammites subcliniques mixtes | 30 |
| 14 | Distribution des cas de mammite subclinique positifs à la microbiologie et les espèces isolées selon le score CMT | 31 |

Liste des abréviations

- CMT :** California Mastitis Test
CCS : Comptage des cellules somatiques
± : Plus ou moins



Introduction générale

Le lait est le produit laitier qui constitue une source riche en élément nutritif. Ce produit est un aliment de base très accessible, il est un compagnon indispensable d'une alimentation équilibrée (Benhamed, 2014). L'Algérie se place à troisième rang mondial en matière d'importation de lait et de produits laitiers (Benhamed, 2014). Le lait cru a des propriétés nutritionnelles supérieures grâce à son pH neutre et à l'activité de l'eau élevée, c'est un excellent milieu de croissance pour les différents micro-organismes. Le lait est directement autoconsommé, le plus souvent à l'état cru échappant ainsi à tout contrôle de qualité après tous traitements de conditionnement (Belmamoun, 2016).

La spécialisation des animaux dans une production s'accompagne d'une sensibilité plus grande aux maladies d'intensification. Dans le cas des vaches laitières, il s'agit surtout des mammites (Togniko Kenneth, 2009). Lors d'une mammité, l'inflammation et les éventuelles toxines bactériennes conduisent à une augmentation de la perméabilité vasculaire, et des dommages cellulaires, de même qu'à une diminution de la production de lait (Rattez, 2017).

La mammité est un processus inflammatoire de la mamelle, caractérisée par la présence dans le lait de germes pathogènes, des cellules en nombre anormalement élevé dites somatiques et des modifications chimiques et biochimiques (Guebli, 2005).

Une autre cause de mammité est le traumatisme : un choc violent peut entraîner un hématome intra-mammaire mais le plus souvent ce sont des traumatismes ou des agressions de la peau du quartier ou du trayon qui sont à l'origine de la mammité (Remy, 2010). L'infection se traduit parfois par des signes cliniques locaux tels que la présence de grumeaux dans le lait ou un quartier dur, gonflé et douloureux. Parfois aussi, des signes généraux tels que la fièvre, l'abattement et l'anorexie peuvent apparaître. Ces mammites sont dites mammites cliniques, mais le plus souvent l'infection passe inaperçue et les mammites sont dites subcliniques ; elles sont alors détectées lors du contrôle laitier par le comptage cellulaire (Bouزيد et al., 2011).

Chez la vache les infections mammaires se manifestent de deux façons :

- Par des mammites subcliniques ou inapparentes : aucun symptôme n'est visible. L'inflammation due à l'infection s'accompagne essentiellement d'un afflux de cellules dans le lait du quartier infecté (Gourreau, 2008). Cependant, une mammité subclinique pouvant devenir clinique, et réciproquement (Gourreau, 2011).
- Par des mammites cliniques avec des symptômes détectables à l'œil nu, inflammation de la mamelle et / ou modifications de l'aspect du lait. Dans les cas graves, outre les symptômes mammaires, l'état général de la vache est affecté.

L'incidence et la prévalence des pathogène compliqué dans les mammites sont différente, il existe une multitude de micro-organisme responsable de mammites(Bouchar,2013). En général, il y'a cinq espèces bactériennes sont responsables à elles seules de 90% des infections mammaires.

Les mammites subcliniques sont principalement causées par des *Staphylocoques* et des *Streptocoques* donc par des bactéries à Gram-positif ; *Staphylococcus aureus* ou *Staphylocoque doré*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*(Rattez, 2017).Les Staphylocoques à coagulase négative génèrent majoritairement des mammites subcliniques. Mais dans certain cas, des mammites cliniques parfois aiguës peuvent se déclarer. Plusieurs quartiers sont alors souvent atteints(Remy,2010).

L'établissement de l'infection et le déclenchement de la mammite dépendent à la fois de la virulence des micro-organismes et des capacités de la défense naturelle ou induite de l'hôte. La sensibilité de la mamelle aux infections est liée lapériodepéri partum (colostrogénèse) et au début de lactation a cette période l'activité fonctionnelle des polynucléaires est limitée, la protection de lactoferrine s'affaiblit, l'ouverture du sphincter et l'écoulement du lait peuvent favoriser la diffusion de l'infection(Guebli,2005).

L'examen clinique de la mamelle et des sécrétions mammaires constitue le pilier de la démarche de diagnostic des mammites c'est le moyen le plus simple et le moins onéreux disponible. Cet examen doit être réalisé en trois temps :

- Examen visuel de la mamelle.
- Palpation de la mamelle.
- Examen visuel des sécrétions mammaires.

L'utilisation régulière d'un bol à fond noir peut faciliter la tâche.La détection des premiers symptômes est une des clefs de la réussite des traitements(Bouaziz,2005).

Les mammites bovines constituent un domaine pathologique dans les élevages laitiers ou elles occasionnent des pertes économiques considérables. Ces pertes sont liées aux réductions de production laitière au lait non commercialisé, aux pénalités sur le prix de vente ainsi que la baisse de la synthèse de la caséine qui pénalise le rendement des fabrications fromagères, le passage accru dans le lait de protéines d'origine sanguine. Par ailleurs, les infections laissent quelques fois des séquelles irréversibles qui se traduisent notamment par l'improductivité des quartiers atteints et conduisent à des réformes prématurées. De plus, dans notre pays, le lait est destiné directement à la consommation humaine. Ce qui constitue un danger pour la santé publique(Ksouri,2015). Le rôle de transmission des maladies zoonotiques

a été prouvé par plusieurs auteurs dans la littérature, comme la transmission de *Listeriamonocytogene* qui peut provoquer la listériose, maladie relativement rare mais mortelle pour l'homme. L'homme peut être infecté aussi par la brucellose, la tuberculose et la fièvre Q, lors de consommation de lait cru (Guebli,2005).

Pour cet effet, notre travail s'articule aux enquêtes qui ont été porté sur l'étude des mammites subcliniques de bovin laitier. Notre choix a été tombé sur les mammites subcliniques pour plusieurs raisons. Une des raisons, les mammites subcliniques en Algérie ne sont pas diagnostiqué et le lait généralement vendu directement aux consommateurs ou surtout aux industriels. Ce lait est généralement considéré par les producteurs ainsi les consommateurs comme un lait sain, mais ne le sont pas en réalité. C'est pour cela, notre objectif est le dépistage des mammites subcliniques dans un élevage de bovin laitier dans la région de Guelma. De plus, nous avons essayé aussi de détecter les agents d'origine bactériens ou fongiques responsable de cette entité pathologique. Pour bien élucider cette pathologie, une enquêtea été réalisée en parallèle de l'état de propreté de l'exploitation de bovin laitier ayant servie pour notre travail.



Etude pratique

I. MATERIEL ET MÉTHODES

I.1. Matériel

I.1.1 Présentation de la ferme pilote Mekhancha Nafaa :

La ferme pilote Mechancha Nafaa, se située sur le territoire de la commune de Djeballah Khemissi à 10km du chef-lieu de la wilaya de Guelma. Une région agricole, entourée de montagnes (Houara).Elle occupe une position géographique stratégique. De climat humide et subhumide.

La ferme comprend 80 vaches laitières, 25 têtes veaux et vèles, 39 génisses, 18 taurillons et 21 taureaux. La production laitière atteint 158386 litres/année durant la campagne agricole de l'année 2021-2022.

Cette exploitation est un élevage des domaines autogérés. La ferme possède trois bâtiments de production qui abritent les animaux en stabulation semi entravée. Cependant, ce bâtiment nécessite beaucoup d'aménagements. L'exploitation comprend des vaches laitières de race Prim' Holstein et Montbéliarde.

Les animaux reçoivent une ration différente selon le stade de lactation ou de tarissement et l'état de la vache. L'alimentation est respectée du point de vue quantitatif. Des cultures de luzerne triticale et de l'orge en vert sont pratiquées durant les périodes sèches. Des aliments concentrés (VLB18) et du fourrage sec (vesce-avoine).Ou par fois la pailleconstitue l'essentiel de leurs aliments. Du fourrage vert récolté dans les parcelles de culture de l'orge et de la luzerne triticale, sont distribués au printemps.

Les abreuvoirs sont collectifs pour toutes les vaches laitières présentent dans une étable.

Le planning d'étable est de type logiciel, complet (qui comprend : diagnostic de gestation, les date de vêlage, les date de gestation, des dates d'insémination artificielle).

L'hygiène s'effectue quotidiennement à grande eau, et la désinfection se réalise par badigeonnages et raclages des déchets. L'étable est riche en débris organiques en décomposition (matières fécales des animaux, fientes des pigeons).

La traite est mécanique ; elle est réalisée deux fois par jour dans l'étable (présence de salle de traite moderne).

L'hygiène de la traite, n'est pas respectée. Le nettoyage du matériel de traite est insuffisant (sans désinfectant). Absence de lavage des mamelles, parfois le lavage est collectif (utilisation d'une lavette commune pour plusieurs vaches pour le lavage

et/ou l'essuyage de la mamelle). Les pis ne sont pas lavés avant la traite, quelques trayeurs qui réalisent un nettoyage à l'eau de robinet.

I.1.2 Animaux et période d'étude

Les animaux inclus dans l'étude appartiennent à l'exploitation Mekhancha Nafaa. Un total de 45 vaches laitières en lactation de deux races différentes (Prim'Holstein et Montbéliarde). Les animaux ne sont pas soumis à aucun traitement antibiotique ni en tarissement ni pendant la période d'étude comprise entre avril et mai 2022.

I.1.3. Matériels d'échantillonnage

- Réactif incolore à base de Teepol à 10% (RAIDEX®).
- La palette de quatre coupelles.
- Seringue.
- Glacière isotherme.
- Tube conique stérile 10ml.
- Alcool.
- Coton.
- Eau.
- Lingette désinfectante.
- Gants.

I.1.4. Matériels et produits utilisés dans le laboratoire d'analyse :

- Anse de platine.
- Pince.
- Bain marine.
- Autoclave.
- Spatule.
- pH mètre.
- Centrifugeuse.
- Bec benzène.
- Etuve (27° C - 37° C) / incubateur.
- Microscope optique.

- Balance.
- Flacons 200 ml.
- Bécher.
- Huile à émersion.
- Réfrigérateur.
- Poire.
- Portoir.
- Eau distillé stérile.
- Pissette.
- Le cristal Violet.
- Lécol.
- Ethanol.
- Fushine.
- Bleu lactophénol.
- Boites à Pétrie stérilisées.
- Les discs oxydase.
- Eau oxygénée 15%.
- Scotch cristal.
- Lames et lamelles.
- Pipettes pasteur.
- Tube à essais stériles de 4ml.
- Lame bistouri.
- Gélose Colombia.
- Gélose Sabouraud chloramphénicol 0.5g/l.
- Milieu Rice Cream.
- Sang humain.
- Plasma humain.

I.2 Méthodes

I.2.1 Evaluation de la saleté de stabulation

Pour évaluer la propreté des vaches et de la stabulation de la présente étude, sur toutes les vaches en lactation, nous avons choisis 10 vaches au hasard. Le jugement de la propreté des animaux est assuré par une appréciation de la propreté de la mamelle et de la cuisse, selon la grille classique de Faye et Barnouin (1985), comme nous l'avons présenté au-dessous le barème de saleté des vaches (Figure 1 et tableau 1).

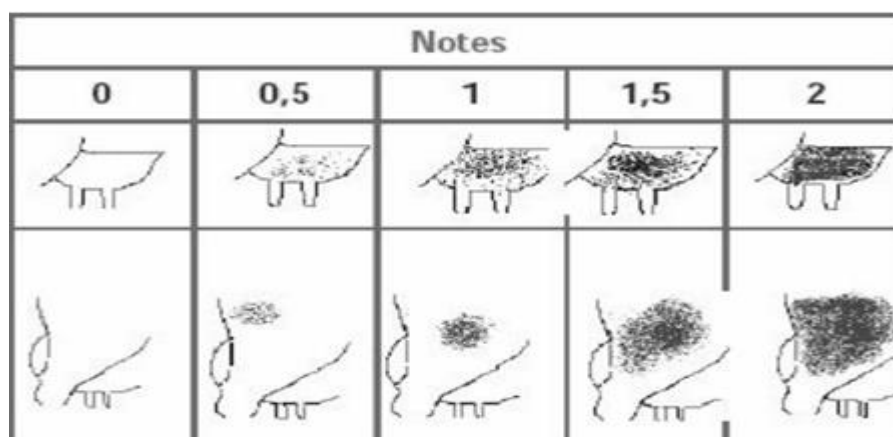


Figure 1 : Note de saleté des vaches pour l'appréciation de la propreté de la mamelle et de la cuisse (Faye et Barnouin, 1985)

0 : Pas de souillures.

0.5 : Quelques souillures peu étendues.

1 : Souillures étendues recouvrant moins de la moitié de la surface observée.

1.5 : Souillures étendues recouvrant plus de la moitié de la surface observée.

2 : Zone totalement souillée ou recouverte d'une croûte épaisse.

Tableau 1: Appréciation de la propreté de l'étable d'après Faye et Barnouin (1985).

| Note moyenne obtenue | Appréciation de la propreté de l'étable |
|----------------------|---|
| 0 – 1 | Stabulation propre |
| 1,5 - 2,5 | Stabulation sale |
| 3 – 4 | Stabulation très sale |

Les résultats de l'évaluation de la propreté des vaches laitières de la cuisse et de la mamelle, de dix vaches pour l'exploitation étudiée, sont présentés dans le

tableau 3. Donc pour évaluer l'état de propreté de cette exploitation, on doit faire la somme des deux notes attribuées pour chaque région de corps (cuisse et mamelle), puis on calcule la moyenne des deux notes des 10 vaches qui ont été choisis. Enfin, on divise la somme des moyennes obtenues sur le nombre des animaux examinés et les confronter à la note obtenue par rapport au barème montré dans le tableau 1.

I.2.2 Méthode de CMT (California Mastitis Test)

Ce test développé par Schalm et Noorlander en 1957 s'adresse essentiellement à la détection des mammites subcliniques. Ce test est le plus pratique et le plus répandu dans le monde. Il s'agit d'un test semi-quantitatif basé lui aussi sur la teneur du lait en cellules somatiques (Bouaziz, 2005).

Sur chaque coupelle de la palette on mesure 2 ml de lait (de chaque trayon) avec une seringue et 2 ml de réactif incolore à base de Teepol à 10%. Avec un mouvement de rotation de palette, quelques secondes pour bien mélanger le lait avec le réactif, on passe à la lecture en observant la transparence du précipité.

Les résultats de test de Schalm sont interprétés en s'appuyant sur le barème de Schalm et Noolander (1957) et le barème de Schneider et al. (1966) (Tableau 2).

Tableau 2: Score CMT de lait individuel d'après Schalm et Noolander (1957) et Schneider et al. (1966).

| Lecture | | Interprétation | Relation avec la numération cellulaire moyenne (X10 ³ /ml) | | |
|--|-----------|--|---|-----------|---------|
| Aspect | Score CMT | | Schalm | Schneider | moyenne |
| Consistance normal couleur grise | 0 (-) | Absente | 0-200 | 0-200 | 100 |
| Leger gel disparaissant après agitation couleur gris | 1(±) | Risque d'infection par un pathogène mineur | 150-500 | 200-600 | 300 |
| Leger gel persistant filaments grumeleux couleur gris | 2 (+) | Mammite subclinique | 400-1500 | 500-2700 | 900 |
| Epaississement immédiat, amas visqueux au fond de la coupelle. | 3 (++) | Mammite subclinique | 800-5000 | 1700-8000 | 2700 |
| Gel épais, consistance du blanc d'œuf couleur violet foncé | 4(+++) | Mammite subclinique à la limite de l'expression clinique | 5000 | 8000 | 8100 |

I.2.3 Prélèvement de lait

Les échantillons de lait réalisés dans le présent travail ont été effectués sur un cheptel de 45 vaches laitières en lactation de la ferme pilote Mekhancha Nafaa.

Au cours de ce travail deux échantillons de lait ont été réalisés sur chaque trayon. Le premier prélèvement est réservé pour le test CMT, le second prélèvement a été effectué pour assurer les analyses microbiologiques (bactériologiques et mycologiques). Sur 180 trayons (les postérieure et les antérieure droite et gauche) dont 5 trayons sont des trayons fibrosés, 175 échantillons de lait ont été effectués. L'opération d'échantillonnage a été réalisée avant la traite de soir.

Les prélèvements sont toujours conservés aux températures de refroidissement dans une glacière isotherme.

I.2.4 Méthode d'échantillonnage

Pour la réalisation des échantillons de lait que ce soit pour les analyses microbiologiques ou pour le test CMT, nous avons adopté la technique d'échantillonnage de Benhamed (2014) qui réside dans les étapes suivantes :

1. Etiqueter le tube stérile en indiquant le numéro de la vache, le quartier prélevé et la date.
2. Désinfectez la mamelle.
3. Le pis doit être propre et sec.
4. Essuyer l'extrémité de chaque trayon avec du coton et l'alcool, désinfecter d'abord les trayons les plus proches et ensuite les plus éloignés.
5. Nettoyage et désinfection des mains.
6. Débuter par échantillonner le trayon le plus près et en extraire les premiers jets. Prendre un tube stérile et enlever le capuchon en évitant toute contamination.
7. Incliner le tube en évitant le contact avec la peau du trayon.
8. Remettre le tube stérile et placer dans une glacière (Benhamed, 2014).

I.3 Choix de milieux de cultures

Dans la présente étude, le milieu de Columbia au sang à 5% a été choisi pour les analyses bactériologiques, parce que c'est un milieu très riche permettant la culture et l'isolement d'une grande variété de microorganismes et plus particulièrement des germes très exigeants (tels que Streptocoques et pneumocoques), à partir de divers

prélèvements d'origine animale. Concernant les analyses mycologiques, le milieu de Sabouraud/chloramphénicol (0.5g/l) a été choisi pour la recherche des champignons dans les échantillons de lait de mammite subclinique. Ce milieu universel très riche, permet la croissance et l'isolement d'une grande variété de levures et de moisissures.

I.3.1 Méthode d'analyse Microbiologique

Après dépistage des mammites subcliniques par le test CMT, tous les quartiers ainsi dépistés ont été échantillonnés. Les prélèvements de lait transporté au laboratoire d'analyse en respectant la chaîne de froid, donc les échantillons doivent être ensemencés dans un délai qui ne dépasse pas les 24h après la réalisation d'échantillonnage.

A l'arrivée des échantillons au laboratoire, une centrifugation des échantillons du lait à 4000 tours/minute pendant 5 minutes a été assurée. Dans la zone stérile du bec benzène, avec une pipette pasteur, nous avons transféré deux gouttes de culot, qui ont été déposées sur une boîte de Pétri (identifiées et numérotées : N° de vache, trayons et date) contenant les milieux : Columbia au sang à 5% et la gélose de Sabouraud/chloramphénicol 0.5 g/l. Les deux gouttes ont été ensemencées par inondation sur la surface des deux boîtes de ces milieux de culture. Ces deux boîtes ont été ensuite incubées dans une étuve à 37°C. Cette température d'incubation très proche de la température corporelle, nous a donné une idée sur la signification pathologique des espèces microbiennes ainsi trouvées sur ces milieux de cultures. La lecture sera effectuée après 24h et 5 jours d'incubation des boîtes de Columbia et de Sabouraud respectivement.

I.4.1. Méthode d'identification des bactéries

I.4.1.1. Coloration de Gram

Après 24 à 48h d'incubation, les boîtes de milieu Columbia au sang à 5% ont été consenties à un examen macroscopique et microscopique des colonies de bactérie qui ont été ainsi détectées. Ces dernières ont été subies à la coloration de Gram qui se résume dans les étapes suivantes :

- Prenez une lame stérile et identifier le numéro et le quartier de la vache.
- Déposer une goutte d'eau distillée stérile sur la lame.

- Toucher une colonie à l'aide d'une anse de platine stérilisée sur le bec benzène pour prélever les bactéries.
- Frotter la pointe dans la goutte d'eau. Laisser sécher à l'air.
- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec benzène pour fixer l'échantillon à la chaleur.
- Une fois les bactéries fixées, nous avons commencé par déposer quelques gouttes de violet de gentiane. On Laisse agir 1min et Rincer très brièvement en faisant couler de l'eau distillée sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis). Par la suite, quelques gouttes de Lugol pendant 1min et rincer brièvement à l'eau distillée comme précédemment décrit. Puis, nous avons lavé la lame avec l'alcool pendant 15 sec et rincez. Enfin, nous avons ajouté une goutte de la solution de Fuchsine pendant 1min et rincez à l'aide de l'eau distillée. Une fois la lame est séchée, nous avons met une goutte d'huile à émersion puis les observer au microscope à l'objectif 100X.

En général, nous avons suivi un schéma d'identification des bactéries (Figure 1), inspiré de protocole expérimental de Bouaziz (2005). Ce protocole est basé sur l'activité enzymatique de certaines bactéries comme celles de catalase, oxydase et coagulase ainsi sur la morphologie macro et microscopique des bactéries. Pour identifier l'espèce des bactéries, il fallait disposer d'autres tests très important comme la mise en culture dans des milieux spécifiques (comme le milieu Chapman...) ainsi la recherche des caractères auxanographiques par la réalisation des tests API (API 20 Strep, API Staph, API 20 NE et API 20E). Dans le présent travail, vu l'indisponibilité de ces moyens pour l'identification des espèces bactériennes, nous n'avons pas pu arriver à l'identification de toutes les espèces. Nous avons approché parfois uniquement au genre ou au groupe des bactéries qui ont été enregistrées au cours de cette étude. La figure 1, récapitule toutes les étapes qui ont été suivi au laboratoire de microbiologie afin d'identifier.

Après la coloration, les bactéries à Gram positif sont bien colorées en violet, et les bactéries à Gram négatif sont colorées en rose.

➤ **Test catalase**

La méthode consiste à déposer une goutte de l'eau oxygénée à l'aide d'une pipette pasteur. Puis, prélever une colonie à l'aide de l'anse de platine. Ensuite, dissocier la colonie dans la goutte. Si ont vu le dégagement des bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme donc le test catalase est positive.

➤ **Test oxydase**

D’abord, placez le disque sur une lame stérile à l’aide d’une pince flambée. Puis, déposer une goutte de l’eau distillée stérile sur le disque. Ensuite, avec l’anse de platine, prélever une colonie et la déposer doucement sur le disque. Une réaction positive se traduit par la couleur violette.

➤ **Test coagulase**

Le plasma est le principal test caractérisant *S. aureus*, ce test de détection consiste à incuber pendant 4 heures à 37°C un mélange de plasma humain et de la souche à tester, de préférence à partir d’une culture en columbia au sang. L’apparition d’un caillot est observée en inclinant le tube à 90°C à cause de la transformation du fibrinogène en fibrine.

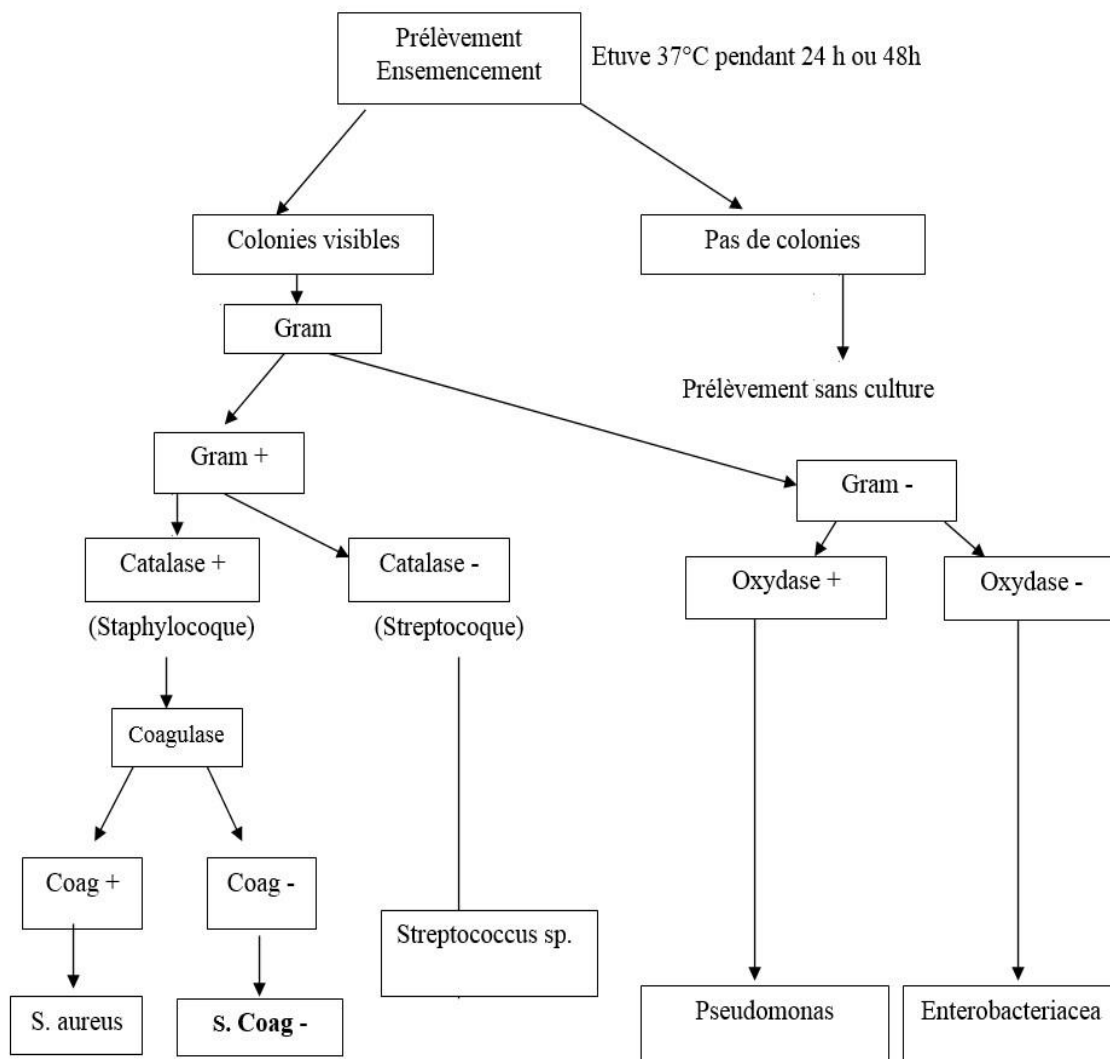


Figure2 : Méthode d’isolement des principales bactéries rencontrées dans notre étude

I.4.2 Méthode d'identification des champignons

Après l'écoulement des 5 jours d'incubation des boîtes de Sabouraud Chloramphénicol (0.5g/l) à la température de 37°C, les colonies des champignons ont subi un examen macro et microscopique pour différencier entre les levures (champignons levuriforme ou forme cellulaire) des moisissures (champignons filamenteux ou tubuleux).

I.4.3 Lecture

Macroscopique : Par simple observation de l'aspect macroscopique des colonies au recto et au verso. Généralement, on peut trouver au cours de l'examen macroscopique des colonies, un de ces deux aspects suivants :

- Crémeuses, lisses ou rugueuses, de couleur blanche, beige ou rouge, il s'agit d'un champignon levuriforme.
- Duveteuses, cotonneuses ou poudreuses, s'il s'agit d'un champignon filamenteux.

Afin d'estimer la charge microbienne, il est important, de quantifier le nombre de colonies ayant poussées par l'utilisation du symbole + entre 1 à 4 + comme suit :

+ : <10 colonies.

++ : 10 à 50 colonies.

+++ : >50 colonies, bien isolées.

++++ : >50 colonies en nappe.

Microscopique : on récupère une partie d'une colonie avec l'anse de platine qui a été ensuite étalée sur une lame additionnée de bleu de méthylène ou bleu lactophénol, puis une lamelle est déposée sur la préparation. L'observation sous le microscope au grossissement 40X.

I.4.4 Repiquage

Les colonies des moisissures ainsi enregistrées ont été repiquées sur gélose de Sabouraud/chloramphénicol et ensuite incubée à 27°C pendant 8 jours. Le but de cette étape consiste à isoler les colonies avec les éléments de fructifications afin de faciliter l'identification de ces champignons filamenteux.

I.5 Moisissures

L'identification des espèces des moisissures fait essentiellement appel aux caractères culturels macroscopiques et microscopiques.

I.6 L'aspect macroscopique

Les caractères morphologiques et culturels sont déterminés par l'observation des surfaces au recto et au verso des boîtes des champignons où on peut noter :

- **l'aspect** : duveteux, laineux, cotonneux, velouté, poudreux, granuleux ou glabre.
- **la taille**: petite, étendue, ou envahissante.
- **la couleur** : blanche, crème ou colorée (verte, brune, noir...).

I.7 Levures

Nous avons essayé d'identifier toutes les espèces de levure qui ont été détectées au cours de cette étude, en se basant sur la galerie d'identification des levures.

I.7.1 Milieu à base de crème de riz (Rie Cream)

Le milieu est coulé en boîtes de pétri avec une épaisseur du milieu d'environ 5 mm. Après l'ensemencement d'un fragment de colonie, on la recouvre d'une lamelle stérilisée à la flamme (elle assure la stérilité et l'anaérobiose). L'incubation est assurée à la température de 27°C pendant 48h et 72h plus tard. À la lecture, les boîtes sont déposées sans le couvercle sur le chariot de microscope, puis les observer au grossissement x40, on va rechercher les éléments fongiques suivants :

- Les chlamydospores caractéristiques de *Candida albicans*.
- Ainsi la production des filaments et des pseudofilaments.
- Levures ou blastospores uniquement.

I.7.2 Milieu à l'Urée Indol

L'hydrolyse de l'urée doit être recherchée systématiquement pour confirmer la présence de quelques espèces comme *Rhodotorula*, *Cryptococcus* et *Trichosporon*.

On prend une colonie de levure ayant poussé puis on la ensemence dans 1 ml du milieu urée Indol dans un tube stérile. Une homogénéisation de la préparation à l'aide d'un vortex puis une incubation à 37°C. Si le réactif va virer de la couleur jaune

orangé au rose ou rouge violet au bout de 4 h ou 6 h ou 24h d’incubation, on les considère comme étant positif.

L’identification des espèces des levures, nécessite également d’autres tests comme le milieu Sabouraud Actidione, la recherche des caractères auxanographiques sur le test API 20 C Aux.... Dans le présent travail, vu l’indisponibilité de ces moyens, nous avons identifiés uniquement le genre parfois l’espèce. En général, le protocole qui a été opté dans cette étude pour les analyses mycologiques est résumé dans la figure 2 ci-dessous.

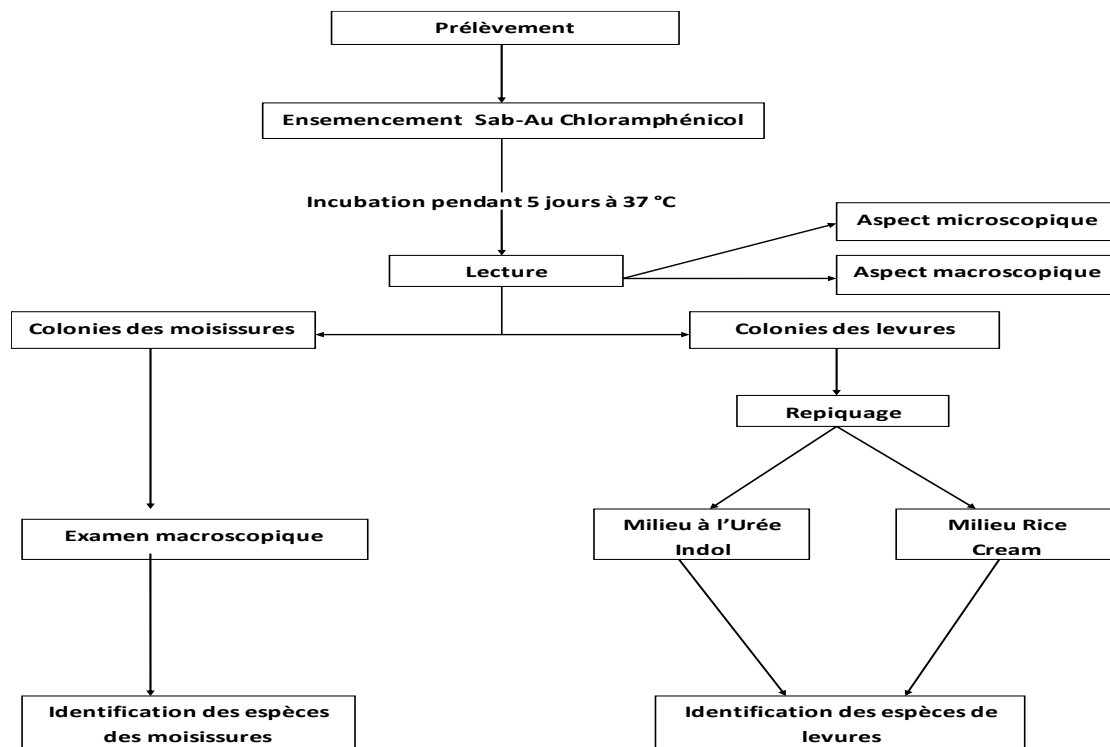


Figure 3: Démarche d’analyses mycologiques adoptées au laboratoire d’analyse

NB :

Les souches des moisissures isolées pendant cette étude ont été identifiées sur la base de clé d’identification de Hoog *et al.* (2019). Les souches des levures, ont été identifiées sur la base de la clé d’identification de Kurtzman *et Fell* (1998)

Résultat et discussion

II. Résultats

II.1 Résultat de la propriété de stabulation

Par une simple observation on a visé dix vaches au hasards pour notre étude de propriété de stabulation.

Le jugement de la propreté des animaux est assuré par une appréciation de la propreté de la mamelle et de la cuisse.

Tableau 3: Notes moyennes de saleté des vaches dans l'exploitation étudiée.

| N° des vaches | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | Note moyenne obtenue |
|-----------------------------------|------|------|------|-----|-----|---|------|---|-----|----|----------------------|
| Note moyenne de saleté des vaches | 1.75 | 1.25 | 1.25 | 1.5 | 1.5 | 2 | 1.75 | 1 | 1.5 | 2 | 1.55 |

A la lumière de ces résultats, il parait que l'exploitation qui a été choisie pour cette étude, c'est une stabulation sale.

II.2 Pratique d'élevage et de la traite

Au cours de nos visites effectuées pendant la période d'étude à la ferme pilote Meckancha Nafaa, nous avons remarqué sur les pratiques d'élevage et de la traite ce qui suit :

- Dans cette exploitation, la traite est mécanique et réalisée deux fois par jour dans l'étable grâce à des faisceaux trayeurs. De plus, la traite est réalisée dans une salle de traite.
- Concernant l'hygiène de la traite, en général, n'est pas respectée. Le lavage des mamelles avant la traite se fait d'une façon collectif à l'aide d'une éponge commune avec l'eau unique sans désinfectant.
- Les trayeurs ne procèdent jamais à l'essuyage des mamelles. Le lavage des mains n'est pas effectué systématiquement.
- Le nettoyage du matériel de traite est insuffisant, sans désinfectant
- Parmi les remarques enregistrer pendant la traite, les faisceaux n'est pas posés sur les trayons rapidement après lavage des de ceux-ci et ne sont pas nettoyer ni avant ni après la traite.

- Le nettoyage des stabulations est assuré uniquement par badigeonnage et raclage des déchets.

II.3 Résultats de dépistage des mammites subcliniques

45 vaches laitières ont été servies pour cette étude, soit 180 quartiers en écartant 5 quartiers qui ont été atrophiés ou non fonctionnels. Donc au total, 175 échantillons du lait ont été obtenus sur chaque quartier, sachant que chaque échantillon correspond à un quartier d'un animal différent.

Dans notre étude, 45 vaches laitières en lactation de la ferme Mekhancha Nafaa ont fait l'objet d'un examen subclinique de chaque quartier pour déceler les cas de mammites subcliniques dans cette exploitation à l'aide de test CMT. Dans notre étude, nous considérons les scores ≥ 1 comme quartier infecté. Les quartiers dont le score CMT est égal à 0 sont classés non infectés.

II.3.1 Prévalence des mammites subcliniques

Le tableau 4 récapitule la positivité de test CMT de tous les quartiers des vaches ayant participées dans le présent travail.

Tableau 4 : Prévalence des mammites subcliniques dans l'exploitation d'étude.

| Positivité de test CMT | Nombre de quartier | Prévalence de mammite subclinique |
|------------------------|--------------------|-----------------------------------|
| + | 175 | 100% |
| - | 0 | |

Ces résultats montrent que tous les échantillons qui ont été réalisés dans cette étude sont positifs au test CMT soit une prévalence de mammite subclinique de 100% sur la totalité des vaches en lactation.

II.3.2 Résultats des mammites subcliniques selon le score CMT

Le tableau 5 récapitule le nombre des échantillons effectués ainsi leurs scores CMT qui ont été enregistrés pour chaque quartier dans l'exploitation d'étude. La

figure 4 montre la fréquence de chaque score CMT qui a été enregistré dans la présente étude.

Tableau5 : Répartition du nombre de quartiers testés selon les scores CMT.

| Score CMT | Nombre |
|--------------|------------|
| 0 (-) | 0 |
| 1 (±) | 50 |
| 2 (+) | 72 |
| 3 (++) | 42 |
| 4 (+++) | 11 |
| Total | 175 |

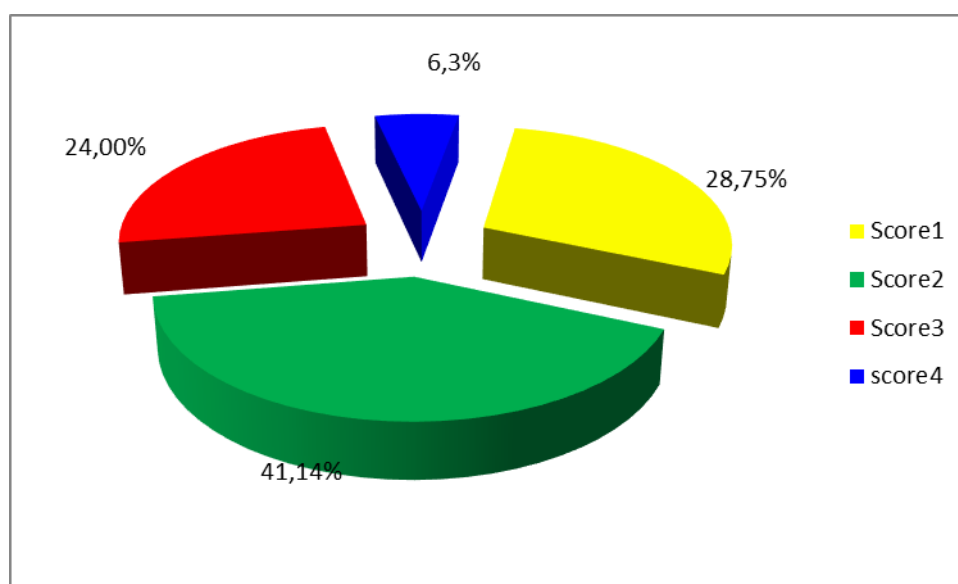


Figure 4 : Fréquence (%) des quartiers testés selon leur score CMT

A partir des résultats mentionnés dans le tableau 5 et la figure 4, nous pouvons interpréter les résultats du test CMT comme suit :

- Sur les 175 échantillons de lait des vaches testés par le CMT, 0% des échantillons ont présenté un score de CMT (-) signifiant selon Schalm et Noolander (1957) et Schneider et *al.* (1966), une concentration des cellules somatiques inférieures à 200.000 cellules/ml de lait. Cette valeur indique l'absence des processus inflammatoires au sein du parenchyme mammaire.

- presque un tiers des quartiers ont montré un score CMT de 1 (+/-) avec une légère augmentation du nombre de cellule somatique (entre 200.000 et 500.000 cellules/ml de lait), ce qui indique la présence d'une légère réaction inflammatoire au niveau de la mamelle.
- 41.14 % des échantillons de lait des vaches de notre étude ont présenté un taux de CCS significatif (500.000 à 1000.000 cellules/ml de lait), due à une inflammation mammaire d'origine traumatique ou infectieux, avec un score CMT de 2 (+).
- presque le quart des quartiers ont un score CMT de 3 (++), avec un taux important de CCS (1000.000 à 5000.000 cellules/ml de lait), ce qui suggère qu'il y a une inflammation étendue dans le tissus glandulaire mammaire.
- Au score de CMT de 4 (+++), nous avons trouvés un taux très faible, indiquant une inflammation intense des glandes mammaires avec un CCS certainement supérieure à 5000.000 cellules/ml du lait.

II.4 Prévalence des mammites subcliniques selon l'étiologie

Les analyses microbiologiques des échantillons de lait de mammites subcliniques fait apparaitre les résultats du nombre d'échantillons positifs selon leur étiologie qui sont consignés dans les tableaux 6 et 7. Dans les figures 5 et 6, nous avons bien illustrés la prévalence des mammites subcliniques microbienne.

Tableau 6 : Effectif et nombre des échantillons de lait de mammite subclinique positif aux analyses microbiologiques.

| | Vaches | Quartiers |
|-------------------------|--------|-----------|
| Nombre total | 45 | 175 |
| Nombre des cas + | 36 | 79 |
| Nombre des cas - | 9 | 96 |

NB : + = Infection d'un quartier (Bactérie ou Champignon)

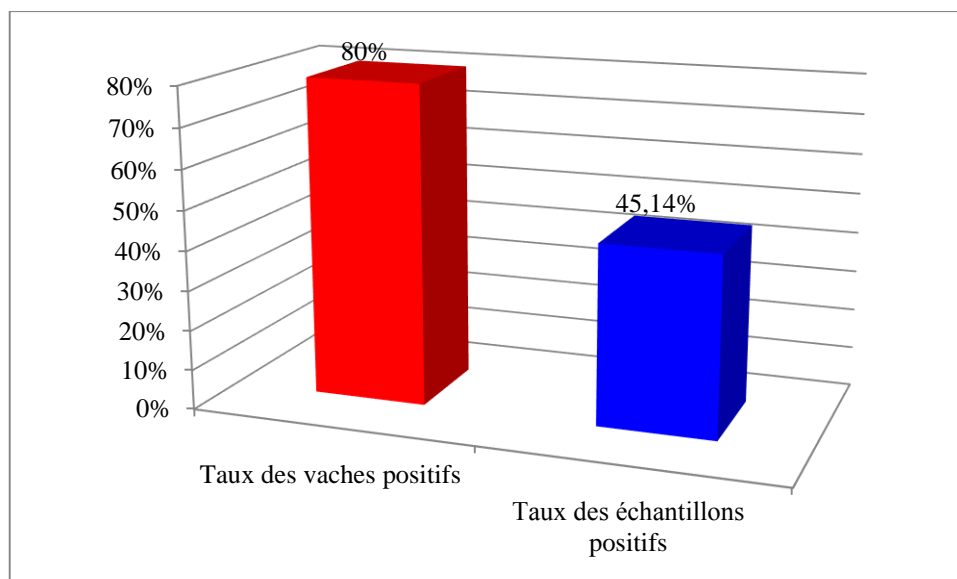


Figure 5 : Prévalence (%) des vaches et des échantillons positifs aux analyses microbiologiques

Tableau 7 : Nombre d'échantillon de lait positif selon l'origine.

| | Nombre d'échantillon positifs aux analyses bactériologiques | Nombre d'échantillon positifs aux analyses mycologiques | Nombre d'échantillon positifs aux analyses bactériologique et mycologiques (mixte) |
|--------|---|---|--|
| Nombre | 76 | 9 | 6 |

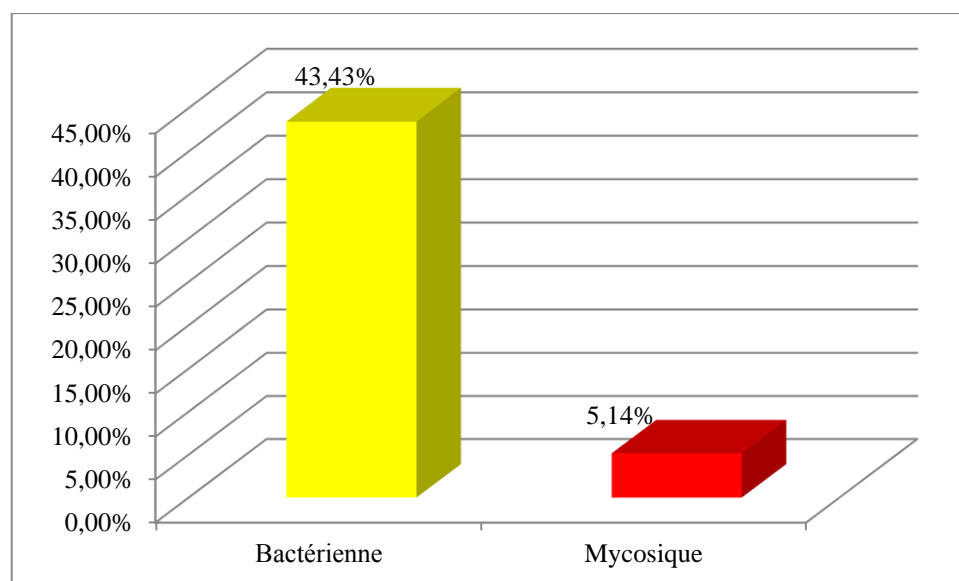


Figure 6: Prévalence des mammites subcliniques selon l'étiologie

Nous notons au regard de ces résultats que :

- Les mammites subcliniques causées par les microbes (bactéries et champignons) constituent une portion très importante des inflammations d'ordre septique dans cette exploitation.
- Il est très évident que l'étiologie d'origine bactérienne est très importante dans cet élevage avec un taux près de la moitié des échantillons de lait positif au test CMT.
- Au contraire, les mammites subcliniques mycosiques restent faibles mais non négligeable.
- L'effectif des vaches ayant soufferts de mammites subcliniques microbiennes dans cette exploitation est très important.

II.5 Etude de la répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de quelques paramètres épidémiologiques

Nous avons essayés dans cette section d'étudier la distribution des cas de mammites subcliniques microbiennes selon plusieurs paramètres épidémiologiques qui peuvent participés de près ou de loin dans la synthèse épidémiologique des cas de mammites subcliniques septiques dans l'élevage concerné par cette enquête.

II.5.1 Répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la race

Nous avons collectés tous les données dans le tableau 8 et la figure 7 qui concernent la distribution des cas de mammites subcliniques en fonction de la race des animaux.

Tableau 8 : Nombre des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la race des animaux.

| Race | Nombre des vaches |
|---------------|-------------------|
| Prim'Holstein | 31 |
| Montbéliarde | 5 |
| Total | 36 |

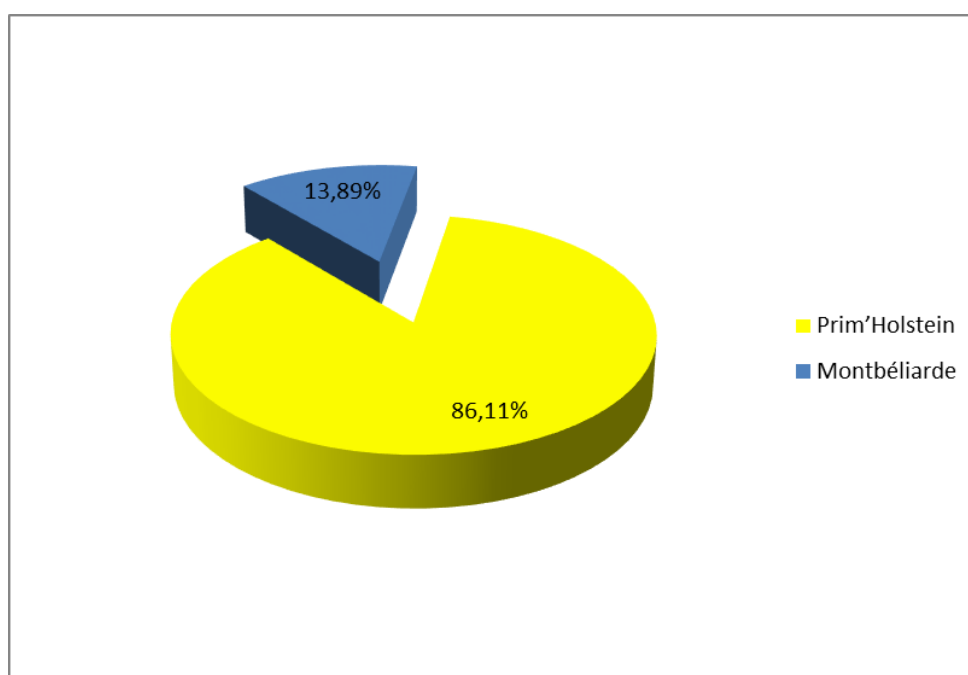


Figure 7 : Fréquence (%) de distribution des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la race des animaux

Il est très clair à partir de ces résultats que l'incidence des mammites subcliniques microbiennes est plus élevée chez les vaches de la race Prim'Holstein (86.11%) que celles de la race Montbéliarde (13.89%).

II.5.2 Répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la position de quartier

Nous avons entrepris dans cette partie, la présentation des résultats de la distribution des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la position des quartiers. Le tableau 9 et la figure 8 résument l'ensemble de ces résultats.

Tableau 9 : Répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la localisation des quartiers.

| Localisation | Nombre |
|---------------------|--------|
| Quartier antérieur | 39 |
| Quartier postérieur | 40 |

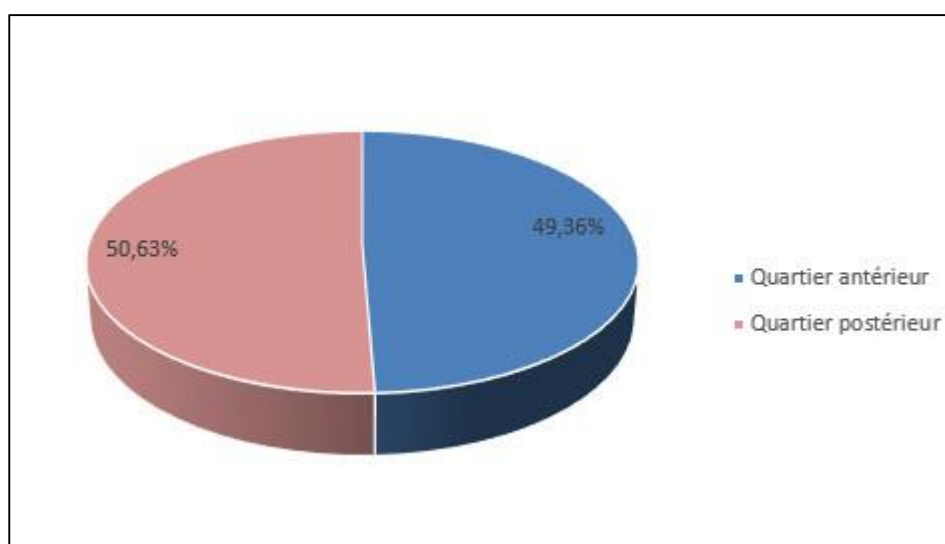


Figure 8 : Fréquence (%) de cas de mammites subcliniques microbiennes selon la localisation des quartiers

Nous notons à partir de ces résultats, qu'il n'y a pas une prédisposition des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la position des quartiers des vaches.

II.5.3 Répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction des vaches primipares et des vaches multipares

Nous avons concis dans le tableau 10 et la figure 9, la répartition et la fréquence des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction des vaches au premier vêlage (primipares) ou des vaches multipares.

Tableau 10 : Nombre des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction des vaches primipares ou multipares.

| Vaches | Nombre |
|------------|--------|
| Primipares | 10 |
| Multipares | 26 |
| Total | 36 |

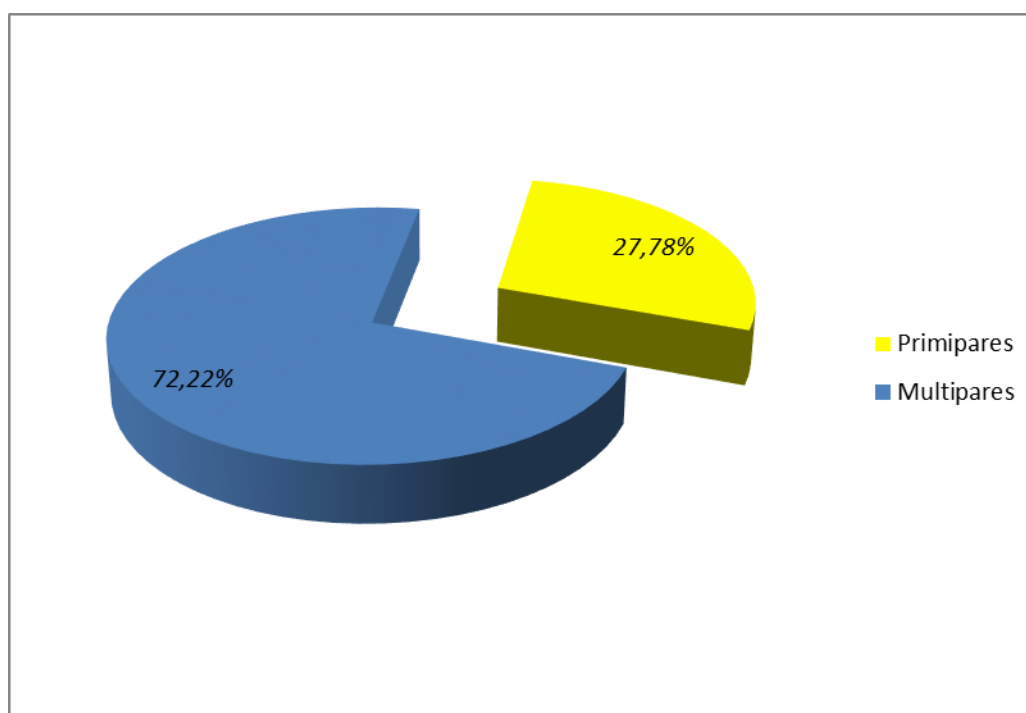


Figure 9 : Fréquence (%) de distribution des cas de mammites subcliniques en fonction des vaches primipares ou multipares

Il paraît que l'incidence des mammites subcliniques microbiennes est éminente chez les vaches multipares. Il faut aviser également que la fréquence des mammites subcliniques microbiennes chez les vaches au premier vêlage reste faible.

II.5.4 Répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes selon le mois de lactation

Tous les résultats de la répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes selon le mois de lactation ainsi leur fréquence, sont récapitulés dans le tableau 11 et la figure 10.

Tableau 11 : Nombre des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de mois de lactation.

| Mois de lactation | Nombre |
|-------------------|--------|
| De 1 à 2 | 10 |
| De 3 à 4 | 3 |
| De 5 à 6 | 7 |
| ≥ 7 | 16 |

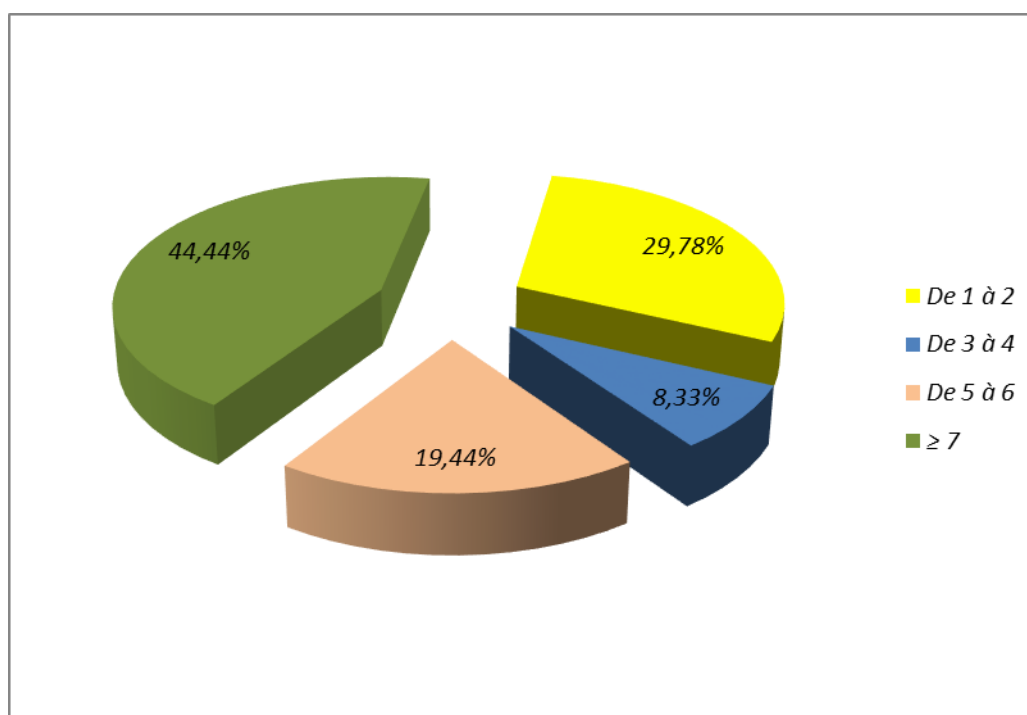


Figure10 : Fréquence (%) de distribution des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de mois de lactation

Il est très remarquable que le premier pic de contamination des mammites subcliniques microbiennes est observé dans les deux mois qui suivent le vêlage puis on note un deuxième pic mais à la fin de lactation. Nous avons enregistré aussi une décroissance régulière de l'incidence de cette entité pathologique au milieu de la lactation. On remarque aussi que la période de lactation dans cet élevage, dépasse les sept mois post vêlage.

II.6 Résultats des analyses microbiologiques

Parmi les 175 échantillons de lait de mammites subcliniques dépistés et analysés au laboratoire de microbiologie, 79 échantillons ont permis l'isolement des bactéries et des champignons d'espèce différente. Le tableau 12 et la figure 11 illustrent bien le nombre et la fréquence d'isolement (%) des espèces microbiennes.

Tableau 12 : Espèces de microbe isolé des échantillons de lait de mammitte subclinique dans l' exploitation étudiée.

| Espèce | Nombre d'isolement |
|---|--------------------|
| Espèce bactérienne | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 33 |
| <i>Staphylocoque à coagulase négative</i> | 25 |
| <i>Streptococcus sp.</i> | 6 |
| <i>Pseudomonas sp.</i> | 7 |
| <i>Entérobactérie</i> | 5 |
| Total | 76 |
| Espèce fongique | |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | 3 |
| <i>Trichosporon sp.</i> | 3 |
| <i>Penicillium expansum</i> | 4 |
| Total | 10 |
| Total des isolats microbiens | 86 |

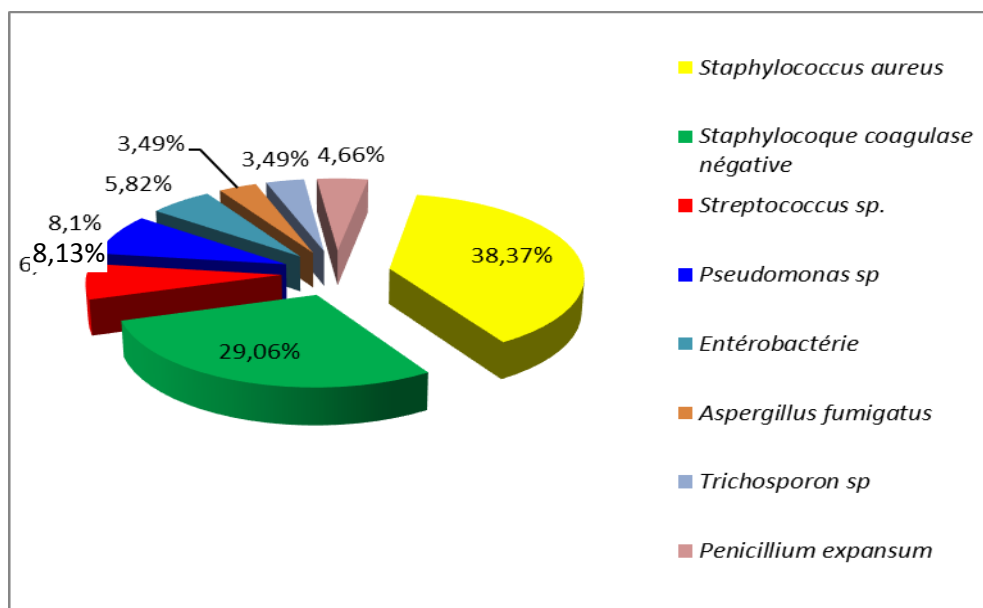


Figure11 : Taux (%) des espèces microbiennes isolées à partir de lait de mammite subclinique

Ces données révèlent la présence d'une claire diversité de genre et d'espèce de microbes. Nous notons également qu'il y a d'avantage de bactéries que les champignons. Quant aux espèces bactériennes, nous n' avons arrivés uniquement à l' identification de quelques espèces bactériennes. Pour les autres isolats bactériens, nous avons identifiés uniquement le genre ou la famille. Au regard de ces données, une prédominance a été enregistrée pour *Staphylococcus aureus* avec 33/86 des isolats suivie par *Staphylocoque* à coagulase négative qui représente 25/86 des isolats microbiens. D'autres isolements des espèces bactériennes moins fréquents comme *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas sp.* et *Entérobactérie*.

A propos, des espèces fongiques qui ont été détectées dans le présent travail, nos résultats indiquent que leur isolement reste non négligeable avec une prédominance des moisissures ou champignons filamenteux soit 7/10 de tous les isolats fongiques contre 3/10 le taux des champignons lévuriformes. En général, les espèces fongiques qui ont été identifiées dans cette étude sont faibles par rapport aux autres agents notamment d'origine bactérienne. En outre, presque une codominance de ces trois espèces fongiques isolées de mammites subcliniques d'origine mycosiques.

II.7. Résultats des mammites subcliniques microbiennes mixtes

Les analyses microbiologiques de 175 échantillons de lait des cas de mammites subcliniques ont permis d'enregistrer des mammites mixtes c'est à dire des mammites causées par la multiplication anormale des bactéries et des champignons en même temps. Nous avons rapportées dans le tableau 13, toutes les espèces bactériennes associées avec les champignons.

Tableau 13 : Nombre des espèces bactériennes associées avec les champignons responsable des mammites subcliniques mixtes.

| Espèces de bactéries associées avec les mycètes | Nombre d'isollements |
|--|----------------------|
| <i>Staphylocoque à coagulase négative + Penicillium expansum</i> | 2 |
| <i>Staphylococcus aureus + Trichosporonsp. + Aspergillus fumigatus</i> | 1 |
| <i>Staphylococcus aureus + Penicillium expansum</i> | 1 |
| <i>Staphylococcus aureus + Trichosporonsp.</i> | 1 |
| <i>Pseudomonas+ Aspergillus fumigatus</i> | 1 |

A la lumière de ces résultats indiqués dans le tableau ci-dessus :

- une diversité d'espèces bactériennes et fongiques a été enregistrée dans les mammites subcliniques microbiennes mixtes.
- L'association des bactéries et des champignons la plus détectée dans cette étude est entre *Staphylocoque à coagulase négative* et *Penicillium expansum*.
- les associations entre les bactéries et les champignons ont été enregistrées surtout pour les espèces de moisissures.

II.8 Distribution des cas de mammite subclinique positifs à la microbiologie selon le score CMT

Le tableau 14 et la figure 12 rapportent la distribution et la fréquence des cas de mammites subcliniques positifs aux analyses microbiologiques selon la note de score CMT et avec les espèces microbiennes isolées.

Tableau 14 : Distribution des cas de mammite subclinique positif à la microbiologie et les espèces isolées selon le score CMT.

| Score CMT | Nombre des échantillons positif au test CMT | Microbiologie Positive | Espèce isolée (Nombre désolément) |
|----------------|---|------------------------|--|
| 0 (-) | 0 | Néants | Néants |
| 1 (±) | 50 | 25 | <i>Staphylococcus aureus</i> (6) <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative (12) <i>Pseudomonas</i> (4) <i>Enterobactéries</i> (1) <i>Streptococcus</i> (2) <i>Penicillium exponsum</i> (2) |
| 2 (+) | 72 | 24 | <i>Staphylococcus aureus</i> (12) <i>Staphylococcus aureus</i> à coagulase négative (9) <i>Pseudomonas</i> (1) <i>Enterobactéries</i> (2) <i>Penicillium exponsum</i> (2) <i>Trichosporon sp.</i> (1) <i>Aspergillus fumigatus</i> (1) |
| 3 (++) | 42 | 20 | <i>Staphylococcus aureus</i> (10) <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative (7) <i>Pseudomonas</i> (2) <i>Streptococcus</i> (1) <i>Trichosporon sp.</i> (1) <i>Aspergillus fumigatus</i> (1) |
| 4 (+++) | 11 | 7 | <i>Staphylococcus aureus</i> (4) <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative (2) <i>Pseudomonas</i> (1) <i>Aspergillus fumigatus</i> (1) |
| Total | 175 | 79 | 85 |

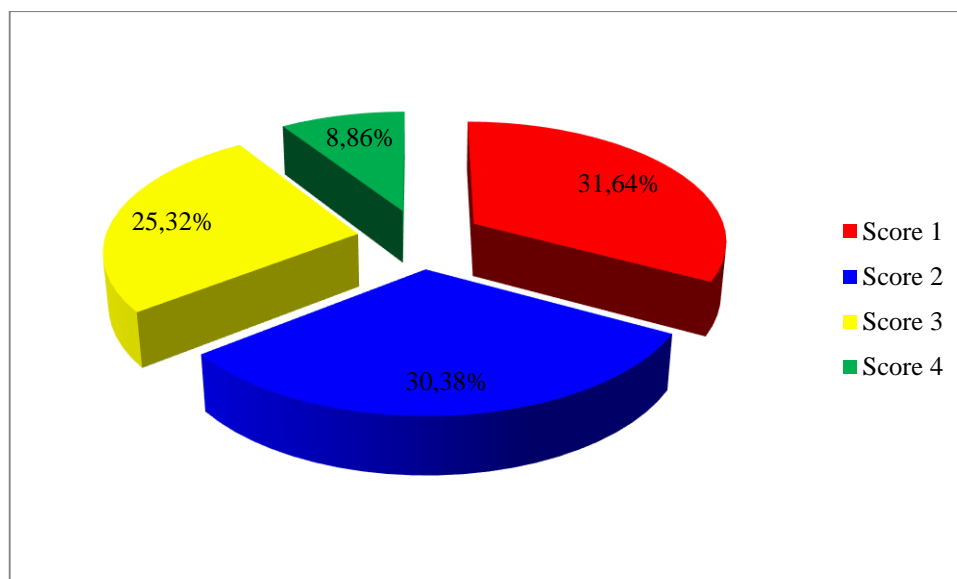


Figure 12 : Fréquence (%) des cas de mammite subclinique positifs à la microbiologie selon le score CMT

Ces résultats montrent :

- Il n'y a pas une corrélation entre les scores CMT et la distribution des cas de mammite subclinique positifs aux analyses microbiologiques.
- Plus le CMT est fortement positif moins le résultat microbiologique est important.
- Il est important de signaler que les quartiers à CMT positif ne sont pas toujours associés à l'isolement de bactéries et de champignons.
- De plus, nous notons à travers ces résultats, que presque *Staphylococcus aureus*, est l'espèce la plus fréquente dans tous les scores CMT.
- Presque toutes les espèces microbiennes ont été isolées sur tous les scores CMT.

III. Discussion

➤ **Evaluation de la saleté des stabulations et des pratiques d'élevage**

Au cours des visites régulières d'exploitation choisie pour cette étude, l'évaluation de l'état de saleté des stabulations, selon la grille classique de Faye et Barnouin (1985) a été ciblée. Les résultats de cette enquête nous indiquent que la stabulation est sale. Nous pouvons expliquer ces résultats par le niveau bas d'hygiène qui a été observé sur les pratiques de la traite et de l'élevage.

➤ **Résultats de dépistage de mammite subclinique :**

Concernant l'enquête qui a été menée sur les mammites subcliniques par le biais de test CMT sur les 45 vaches ayant servies pour cette étude, il parait que la prévalence de ce genre de mammite est de 100%, qui est un taux très important. Ce résultat indique que dans cet élevage, le lait des quartiers en apparence sains, mais ne le sont pas en réalité. Néanmoins, une distribution des quartiers positifs ont été figurées surtout sur les scores qui indiquent une faible charge en cellules somatiques. En générale, ces résultats sont comparables par rapport de ce qui a été relevé par Belmamoun (2016) dans son étude réalisé à Sidi Bel Abbes. Par ailleurs, les résultats sur le même propos qui a été enregistré par Ksouri (2015) dans son étude porté sur deux régions de l'est algérien (Guelma et Souk Ahras) où il a enregistré des résultats contradictoire avec le mien.

➤ **Prévalence des mammites subcliniques microbiennes :**

Les résultats des analyses microbiologiques qui ont été enregistré dans le présent travail, montrent un taux très élevé de prévalence des causes septiques de ce genre des inflammations des glandes mammaires (45.14%). De même, la prévalence de l'étiologie bactérienne est très élevée avec 43.42%. Ce taux est inférieure des résultats enregistrés par Benhammade (2014) (52.33%) et Saidi et *al.* (2010) (53.33%) dans ces études réalisées dans la région d'Oron et larégion centre de l'Algérie respectivement. En revanche, la prévalence qui a été enregistré dans l'étude réalisé dans nord-est de l'Algérie par Bouzid et *al.* (2011), et dans cette même région de l'Algérie par Boufaida (2012), est apparait inférieur de la notre où ils ont trouvés un taux de 29,7 % et 23.68% respectivement.

Comme nous l'avons présenté dans les résultats, l'effectif des vaches positives aux analyses microbiologiques est très élevé (80%). Cette valeur est très supérieure avec celle enregistrée par Boufaïda (2012) (38.6 %).

Quant à la prévalence des mammites subcliniques mycosiques, la mise en culture sur le milieu de sabouraud, nous a permis d'enregistrer une prévalence très faible mais non négligeable de la présence des mycètes comme agent de mammité avec 5.14% qui semble très proche de la valeur relevée par Ksouri *et al.* (2015) sur la prévalence de ce statut d'inflammation des glandes mammaires avec 5.88%.

➤ **Distribution des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de quelques paramètres épidémiologiques :**

• **Prévalence des cas de mammites subcliniques microbienne en fonction de la race**

Nos résultats sur la répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes selon la race des animaux, nous ont permis de remarquer que la majorité des cas sont observés beaucoup plus chez les vaches de la race Prim'Holstein (86.11%) contre un taux faible chez les vaches de la race Montbéliarde (13.89%). En général, cette constatation a été relevée dans la littérature par plusieurs auteurs notamment Ksouri (2015) et Bouaziz (2005).

• **A propos de la distribution des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction de la position des quartiers :**

Ils évaluent à la lumière de nos résultats, qu'il n'y a pas une prédisposition nette des cas positifs vis-à-vis la position de quartiers antérieurs ou postérieurs. En général, presque les mêmes constatations ont été décrites par Bouaziz (2005). Par contre, Ksouri (2015) et Belmamoun (2016), dans ces études sur les mammites, ils ont enregistré une prédisposition des cas positifs sur les quartiers postérieurs.

• **Distribution des cas de mammites subcliniques microbiennes en fonction des vaches primipares et des vaches multipares :**

Au regard des données enregistrées sur la distribution des cas positifs par rapport les vaches primipares ou multipares, il est très clair que les vaches multipares

de la présente étude sont les plus affectées par cette entité pathologique. Par contre, les vaches primipares sont apparaît moins touchées. Dans la bibliographie, nous avons trouvés plusieurs arguments épidémiologiques qui indiquent que les vaches multipares sont les plus affectées par les mammites (Amroune, 2019 ; Belmamoun, 2016). En outre, les vaches multipares présentent un équilibre métabolique fragilisé par les productions des veaux et du lait chaque année et qui sont alimentées par une ration généralement de faible valeur. Probablement ces facteurs vont influencer la qualité des réponses de statut immunitaire des vaches.

- **Distribution des cas de mammites subcliniques microbiennes selon le mois de lactation :**

Nous notons également à la lumière de nos résultats, une prépondérance des cas de mammites subcliniques microbiennes dans les deux premiers mois de lactation ainsi à la fin de cycle de lactation. Ces observations ont été aussi relevées par Ksouri(2015). La prédisposition aux infections au début de lactation est peut être expliqué par la diminution de la concentration en cellules polynucléaires neutrophiles circulantes (Newbold, 1976) et la diminution de l'afflux de neutrophiles et de lymphocytes dans la mamelle (Jasper *et al.*, 1975 ; Kherli *et al.*,1989) surtout dans les premiers jours suivant le vêlage. Quant à la fin de lactation, cela est peut être expliqué par l' épuisement des vaches productrices de lait au-delà de 7^{ième} mois de lactation quelles peut touchées, en affectant probablement la qualité de défense immunitaire.

- **Fréquence (%) des cas de mammites subcliniques positifs à la microbiologie selon le score CMT :**

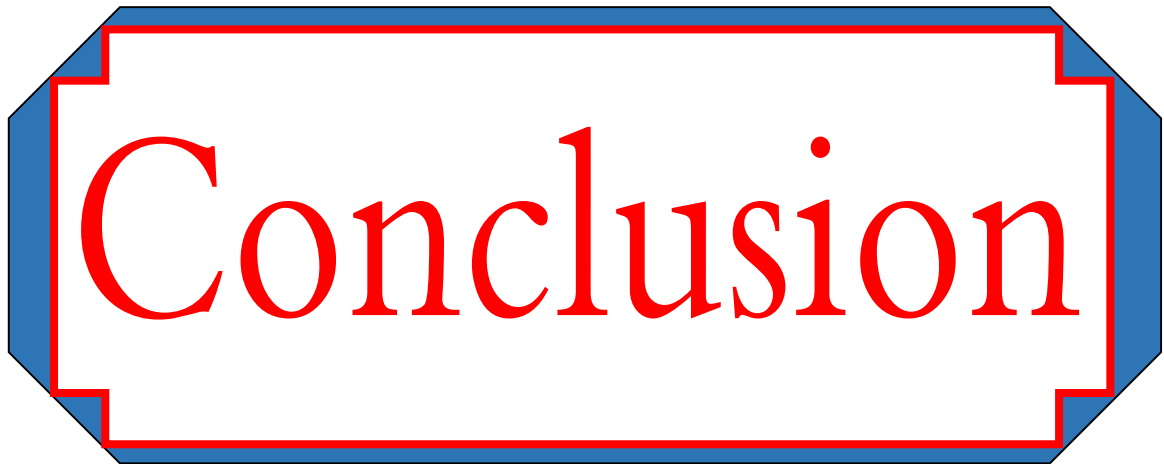
Dans la présente étude, nous avons consigné une différence significative de la distribution des cas de mammite subclinique microbienne en fonction du score CMT. Nous remarquons aussi que plus le CMT est fortement positif plus le résultat microbiologique est faible. Ce résultat contredise avec les observations déclarées dans ce propos, par Ksouri (2015) et par Belmamoun (2016).Cependant, les quartiers à CMT positif ne sont pas toujours associés à l'isolement de champignons.

➤ **Fréquence des espèces microbiennes isolées des échantillons de mammites subcliniques :**

Les analyses microbiologiques des échantillons de lait de mammite subclinique ont permis d'identifier plusieurs espèces bactériennes et fongiques.

- *Staphylococcus aureus* : la fréquence d'isolement de cette espèce bactérienne dans ce travail est très importante 38.37%. Cette prédominance de *Staphylococcus aureus* a été enregistrée par plusieurs auteurs sur les investigations effectuées en Algérie comme ceux de Bouaziz (2005) (28,4%), Benhamed (2014) (38.98%), Saidiet *al.*(2010) (40%). Par contre, Boufaida Asnour et *al.* (2012) ont trouvés des résultats discordants (30.30%), avec la notre. Cette espèce est considérée comme espèce pathogène majeure de mammite (Bouaziz, 2005).
- Concernant la seconde espèce la plus fréquente dans cette étude, *Staphylococcus* à coagulase négative avec un taux de la fréquence d'isolement de 29.06% qui est apparait important aussi par rapport aux restes des isolats microbiens. En général, Bouaziz (2005) a décrit que cette espèce est fréquemment isolée des échantillons de lait de mammites subcliniques et qui a été considérée parmi les espèces pathogènes mineures. Néanmoins, *Staphylococcus* à coagulase négative a été isolée comme espèce fréquente et dominante par Boufaida Asnour et *al.* (2012) (43%). En général, le résultat de ces auteurs est très supérieur par rapport notre valeur enregistrée dans la présente étude. Par contre, Bouaziz (2005) a trouvé un taux d'isolement faible (10,8%) par rapport de ce qui a été relevé dans le présent travail. En général, cette espèce a été isolée surtout dans les échantillons de lait de mammites subcliniques (Bouaziz, 2005).
- A propos de *Streptococcus sp.* qui a été isolée dans un taux faible de 6.98% de toutes les espèces microbiennes enregistrées dans cette enquête. Cette valeur est inférieure par rapport au chiffre qui a été trouvé par Saidi et *al.* (2010) où ils ont trouvés un taux de 12.5%.
- En ce qui concerne l'espèce *Pseudomonas sp.* qui a été enregistrée dans 8.13% de tous les isolats microbiens. Il est très clair que son taux d'isolement est très supérieur de la valeur enregistrée par Saidi et *al.*(2010)(uniquement dans 2.5% des isolats).

- Le dernier isolat bactérien qui a été enregistré est représenté par *Entérobactérie* dans 5.82% de tous les isolats. Ce chiffre est inférieur de ce qui a été isolés par Benhamed (2014) où il a enregistré 11.32%. En revanche, ce groupe des bactéries a été détecté uniquement dans 2,5 % de toutes les bactéries enregistrées par Saidi et *al.* (2010).
- Concernant les espèces fongiques qui ont été détectées dans cette étude, d'une façon général, les travaux sur ce genre des pathogènes sont très rare dans notre pays.
- ✓ Commenant par la première espèce la plus fréquemment isolée dans ce travail, est représentée par *Penicillium expansum* isolée dans 4.66% de tous les isolats, une valeur très proche de ce qui a été relevé par Ksouri et *al.* (2015). De plus, Costa et *al.* (1993), Ramisse et *al.* (1982) et Kumar-Jand et Dhillon (1975), ont obtenu presque les mêmes résultats. par ailleurs, l'étude du pouvoir pathogène de ce champignon n'a jamais été démontrée en laboratoire à ce jour.
- ✓ Quant à la seconde espèce de moisissure qui a été enregistrée dans notre étude, *Aspergillus fumigatus*, sa fréquence d'isolement est faible (3.49%) et qui est légèrement inférieur de taux décrit par Ksouri et *al.* (2015) (7.02%). Cette espèce redoutable de moisissure a été enregistrée par plusieurs auteurs à travers le monde (Ramisse et *al.* (1982) ; Simaria et Dholakia (1986) ; Fadlelmula et *al.* (2009) et Kumar-Jand et Dhillon (1975).
- ✓ La dernière espèce des champignons qui a été trouvé dans cette étude, *Trichosporon sp.* avec un taux d'isolement faible de 3.49% très comparable de la valeur enregistrée par Ksouri et *al.* (2015) (2.63%). En général, cette espèce de levure a été signalée dans la littérature dans des faibles portions des échantillons de lait par plusieurs auteurs (Das et Joseph (2005) ; Spanamberg et *al.* (2008b) ; Türkyilmaz et Kaynarca (2010).



Conclusion

Conclusion

Une approche importante sur les mammites subcliniques dans un élevage de bovin laitier a été effectuée dans la présente étude avec une description de quelques facteurs de risque de ce genre de mammite asymptomatique. Ce travail a permis de mettre en évidence les agents étiologiques d'origine bactérienne et mycosique de cette entité pathologique très fréquente dans l'exploitation étudiée. En effet, le test de Schalm qui a été réalisé dans cette étude pour le dépistage des mammites subcliniques, a enregistré l'absence totale du lait sain avec la détection des inflammations d'intensité variable (de score 1 au score 4) dans tous les quartiers échantillonnés appartenant de toutes les vaches en lactation. De plus, l'enquête qui a été lancée en parallèle sur l'état de propreté de cet élevage a révélée que cette exploitation est qualifiée d'une stabulation sale selon la grille classique d'évaluation de la saleté des étables. Effectivement, lors de nos visites, nous avons remarqués que cette élevage est caractérisé par une mauvaise hygiène des vaches, l'absence d'un nettoyage convenable des machines à traire a été notée et le nettoyage des mamelles s'il existe, se fait à l'aide d'une lavette commune à plusieurs vaches. La négligence du nettoyage des mains par les trayeurs avant la traite, plutôt une contamination des mains par les sécrétions lactées à la faveur d'une vérification visuelle de lait avant la traite, a été observée.

A la lumière des résultats que nous avons obtenu à la faveur des analyses microbiologiques, on peut dire que les mammites d'origine microbienne dans cette exploitation, constitue un véritable problème sanitaire dont la prévalence de ceci est presque la moitié des vaches ayant soufferts de cette forme de mammite avec une prévalence de 45.14%. Néanmoins, la prévalence des mammites subcliniques d'origine bactérienne est importante (43.43%) par rapport l'origine mycosique (5.14%).

L'observation sur les quelques paramètres épidémiologiques qui peuvent influencés la synthèse des cas de mammites subcliniques septiques, nous a permis de détecter des cas de ce type de mammites beaucoup plus sur la vaches multipares de la race Prim' Holstein et surtout au début et à la fin de lactation. La prédisposition par rapport à la position des quartiers antérieurs ou postérieurs n'est pas constatée dans la présente étude.

Par ailleurs, nous avons détectés dans les échantillons de lait, une prédominance des espèces de bactéries surtout du genre *Staphylococcus*. Dans notre étude, *Staphylococcus aureus* est la bactérie la plus fréquemment isolée des échantillons de lait et qui est reconnue comme une bactérie hautement pathogène, suivie par *Staphylocoques* à coagulase négative. Quant aux isolats fongiques, presque une codominance a été enregistrée sur les espèces de

Conclusion

moisissures (*Penicillium expansum* et *Aspergillus fumigatus*) et l'unique espèce de levure (*Trichosporon sp.*).

Nous notons également au regard des résultats des analyses microbiologiques, l'existence des mammites subcliniques mixtes dont l'étiologie est double avec une prévalence de 3.43%. De plus, l'association microbienne la plus fréquente entre *Staphylocoques* à coagulase négative et *Penicillium expansum* a été notée dans cette étude.

Enfin, les *Staphylococcus aureus* est l'espèce bactérienne la plus fréquente dans tous les scores CMT qui ont été décelés avec isolement, presque de toutes les espèces microbiennes sur tous les scores CMT.

En Algérie, vu l'absence d'un examen direct ou indirect pour détecter l'état de santé des glandes mammaires, on se rend compte que certains laits présumés sains proviennent de quartiers infectés latents. En outre, la détection des mammites subcliniques dans cette exploitation, illustre bien les conséquences économiques de cette pathologie. Ces sécrétions lactées doivent être écartées de la consommation surtout pour les sujets particulièrement immunoréceptifs car le lait de cet élevage est destiné à la consommation humaine directe.

Cette étude permet de suggérer le rôle de l'antibiothérapie qui provoque une inhibition du statut immunitaire de la vache par une diminution de l'efficacité des réponses immunitaires de la mamelle vis-à-vis les agressions fongiques et causant aussi une élimination des bactéries, sélectionnant et favorisant ainsi la flore fongique limitée à l'état normale par les bactéries. Ainsi, les champignons saprophytes passent à l'état de parasitisme.



Référence Bibliographique

Référence Bibliographique

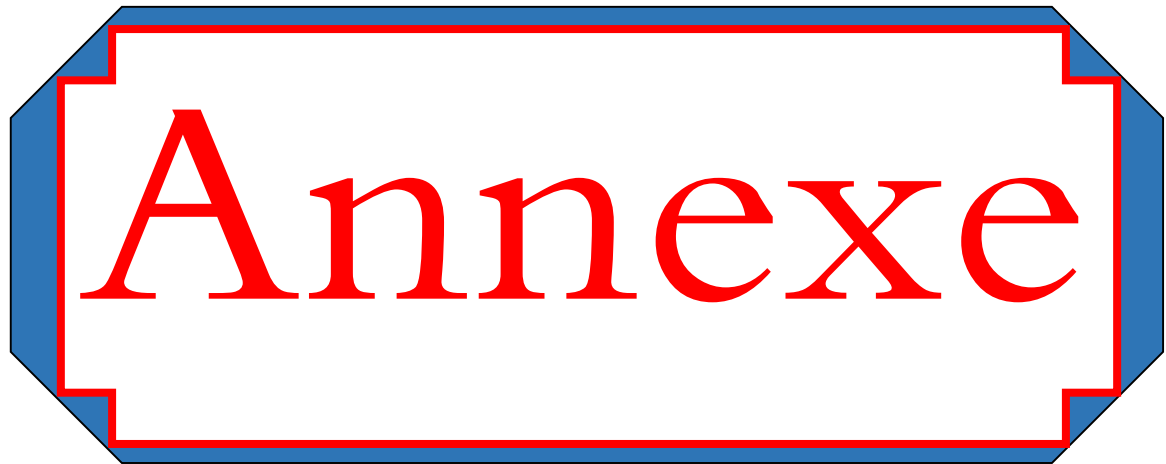
1. Amroune. W. (2019). Dépistage des mammites subcliniques des vaches dans la région semi-aride : cas de la wilaya de M'sila.
2. Belmamoun, A.R (2016).Alimentation et nutrition humaine Soutenue.Université Djilali Liabés de Sidi Bel Abbés.
3. Benhahmed, N. (2014).Contrôle microbiologique et Hygiène alimentaire. Université Ahmed Ben Bella Oran.
4. Bouaziz,O.(2005). Contribution à l'étude des infections intra mammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien. Université Frères Mentouri - Constantine.
5. Bouzid,R.,& Hocine,A.,& Maifia,F.,& Rezig,F.,& Ouzrout,R.,& Touati,K. (2011).Prévalence des mammites en élevage bovin laitier dans le nord-est algérien. Faculté de médecine vétérinaire. Département des sciences cliniques. Pôle ruminants porcs, Bat B42. Bd de colons ter 20-4000. Sart Tilman. ULG. Liège, Belgique.
6. Constance,R.(2017).Les mammites subcliniques en élevage bovin laitier : antibiothérapie et alternatives.HAL Id: dumas-01643830. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01643830>
7. Costa EO, Gandra CR, Pires MF, Coutinho SD, Castilho W, Teixeira CM. Survey Of Bovine Mycotic Mastitis In Dairy Herds In The State Of Sao Paulo, Brazil. Mycopathologia. 1993.
8. Damien,B.(2013).Potentiel probiotique des bactéries lactiques de l'écosystème mammaire bovin contre les mammites à Staphylococcus aureus. Université de rennes1.
9. Das PK, Joseph E. Identification And Antibigram Of Microbes Associated With Buffalo Mastitis in Jabalpur, Madhya Pradesh, India. Buffalo Bulletin. March 2005.
10. Dominique,R.(2010).Les mammites. Édition février 2010 groupe France agricole. France.
11. Fadlemula A, Al Dughaym AM, Mohamed GE, Al Deib MK, Al Zubaidy AJ. Bovine Mastitis: Epidemiological, Clinical and Etiological Study in a Saudi Arabian Large Dairy Farm. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. 2009.
12. Faye B, Barnouin J. Objectivation de la propreté des vaches laitières et des stabulationsL'indice de propreté. Bull. Tech. CRZV Theix INRA. 1985
- 13.GOURREAU,J.M.(2008).Maladies des bovins. (4eme édition).France agricole.
14. Guebli, A. (2005). Etude Cinétique Des Cellules Somatiques Dans Le Lait Des Vache

Référence Bibliographique

- Atteintes De Mammite et De Vache Saines. Université Frères Mentouri - Constantine.
15. G.S. de Hoog, J. Guarro, J. Gené, S. Ahmed, A.M.S. Al-Hatmi, M.J. Figueras and R.G. Vitale Atlas of Clinical Fungi January 2019 Edition: 4th ed.Publisher: Westerdijk Institute / Universitat Rovira i Virgili, Utrecht / ReusISBN: 9070351439.
- 16. Jasper DE, Dellinger JB, Bushnell RB.** Herds studies on coliform mastitis. J. am. Vet. Med.Assoc. 1975.
17. Jean-Marie,G.(2011).Guide pratique des maladies des bovins.(4eme édition). France agricole.
- 18. Kherli ME, Monnecke BJ, Roth JA.** Alterations in bovine lymphocyte function during the preparturiant period. Am. J. Vet. Res. 1989.
19. Ksouri, S.(2015). Situation épidémiologique des mammites mycosiques chez le bovin laitier dans deux régions de l'est-Algérien et étude de l'efficacité in vitro des huiles essentielles des plantes aromatiques sur des isolats fongiques. Université Chadli Bendjedid d'El Tarf.
20. Ksouri S., Djebir S., Hadeff Y. et Benakhla A. (2014). Survey of Bovine Mycotic Mastitis in Different Mammary Gland Statuses in Two North-Eastern Regions of Algeria. Mycopathologia. Apr;179(3-4):327-31. DOI 10.1007/s11046-014-9845-2.
21. Kumar-Jand S, Dhillon SS. Mastitis Caused By Fungi. Indian. Vet. J. 1975.
22. Kurtzman CP, Fell JW. The Yeasts: A Taxonomic Study. 4th Ed. Amsterdam: Elsevier Science B V; 1998).
- 23. Newbold FHS.** Phagocytic activity of bovine leukocytes during pregnancy. Can. J. Comp.Med. 1976.
- 24. R. Saidi, D. Khelef R . Kaidi (2010).** Evaluation d'un test de dépistage précoce des mammites subcliniques des vaches. Université de Blida Algérie.
- Ramisse J, Brement AM, Lamarre C, Viaud MA, Breard A. Résultats D'une Enquête Sur Les Mammites En Vendée. Point. Vét. 1982.

Référence Bibliographique

- 25.** Schalm,OW.,& Carroll, EJ., Jain,NC.(1971). Bovine mastitis.(1^{er}edition). Philadelphia.
26. Simaria MB, Dholakia PM. Incidence And Diagnosis Of Mycotic Mastitis In Cattle. Ind. J.An. Sci. 1986.
27. Spanamberg A, Wunder Jr EA, Pereira DIB, Argenta J, Sanches EMC, Valente P, Ferreiro L. Diversity Of Yeasts From Bovine Mastitis In Southern Brazil. Rev Iberoam Micol. 2008b.
- 28.** Togniko,K.T.(2009).Enquête épidémiologique sur les mammites subclinique dans les élevages bovins laitiers périurbains a Dakar. Université cheikh anta diop de dakar.
29. Türkyılmaz S, Kaynarca S. The Slime Production By Yeasts Isolated From Subclinical Mastitic Cows. Acta Vet. Brno. 2010.
- 30.** Z. Boufaida Asnune 1 M.J. Butel 2 R. Ouzrout 1, 2012. Prévalence des principales bactéries responsables de mammites subcliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie. universitaire El Tarf faculté des Sciences pharmaceutiques et biologiques, laboratoire de microbiologie, Université Paris 5, France.

A decorative frame consisting of a blue outer border and a red inner border. The frame has a central rectangular area with a white background. The corners of the frame are cut off at a 45-degree angle, creating a hexagonal-like shape.

Annexe

Annexe

Annexe 01 : Fiche d'examen clinique

Date : le.....

Exploitation : Lieu : Type de l'élevage : Vache N° □□□□□

Primipares Multipares Race: Locale Croisée Améliorée Observation :.....

Hygiène de la vache :

Hauteur de trayon par rapport au jarret : Au dessus Au dessous

Mois de lactation : Rang de lactation : Type de mammites cliniques :

Score de test CMT (Schalm , 1957 ; Schneider et al., 1966)

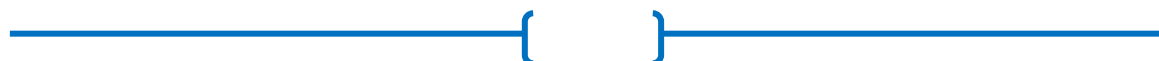
| Résultat | Lecture | | Interprétation | Relation avec la numération cellulaire moyenne (x 103 /ml) | | |
|----------|---|-----------|--|--|-------------|----------|
| | Aspect | Score CMT | | Schalm | Schneider | Moyenn e |
| | Consistance normale Couleur grise | 0 (-) | Absente | 0 - 200 | 0 - 200 | 100 |
| | Léger gel disparaissant après agitation couleur gris violacé | 1 (±) | Risque d'infection par un pathogène mineur | 150 - 500 | 200 - 600 | 300 |
| | Léger gel persistant, filaments grumeleux couleur gris violet | 2 (+) | Mammite subclinique | 400 -1500 | 500 - 2700 | 900 |
| | Epaississement immédiat, amas visqueux au fond de la coupelle | 3 (++) | Mammite subclinique | 800 - 5000 | 1700 - 8000 | 2700 |
| | Gel épais, consistance du blanc d'œuf Couleur violet foncé | 4 (+++) | Mammite subclinique à la limite de l'expression clinique | > 5000 | > 8000 | 8100 |

Les prélèvements :

N° de prélèvement pour l'examen bactériologique :

N° de premier prélèvement pour l'examen mycologique :

Date-le :



Annexe

Annexe 02 : Fiche enquête mammite clinique

Nom et adresse de l'exploitation :

Nom et adresse du vétérinaire :

Elevage :

Nombre de vaches :

Race :

Stabulation : Libre Entravée

Etat de propreté : Mauvais Moyen Bon

Traite : Salle de traite

Etable

Lactoduc

Pots

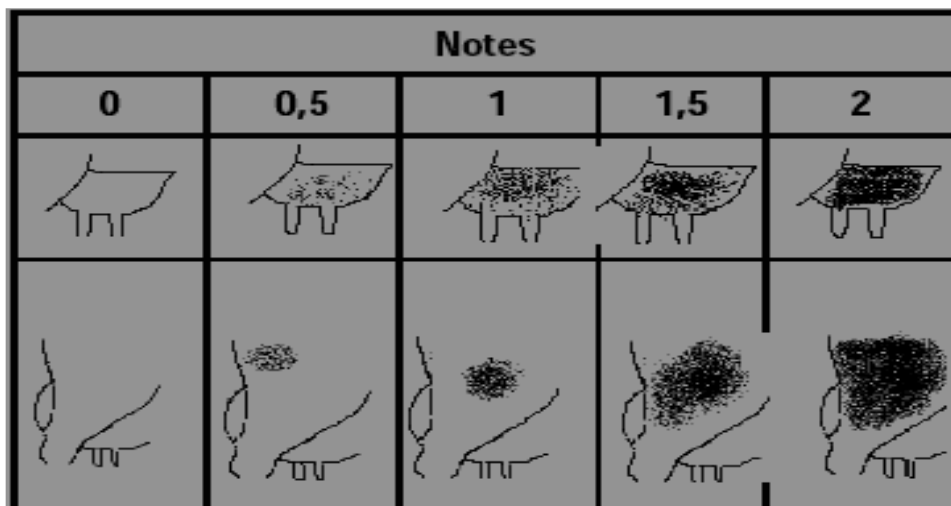
Machine à traire : Contrôle annuel

Age des manchons :

Le matériel du travail : Nettoyé non

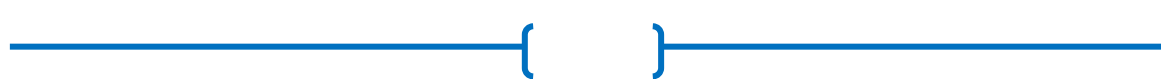
Note de Saleté des vaches (grille classique de Faye et Barnouin, 1985) :

| | N° | Note Mamelle | Note Cuisse | Total |
|----|----|--------------|-------------|-------|
| 1 | | | | |
| 2 | | | | |
| 3 | | | | |
| 4 | | | | |
| 5 | | | | |
| 6 | | | | |
| 7 | | | | |
| 8 | | | | |
| 9 | | | | |
| 10 | | | | |
| | | | | |
| | | | | |



Hygiène des trayeurs :

Contrôle annuel de la machine à traire : oui non



Annexe

Renouvellement de la litière : Journalière 2 x jour Autre.....

Aire d'exercice : présence absence

Fréquence de raclage de l'aire bétonnée : suffisante non suffisante

Source d'eau potable disponible : Robinet Puits Pâturages

Lavage des mains avant la traite: oui non

Désinfection de la mamelle : oui non

Chiffon destiné à nettoyer les mamelles : oui non

Chiffon par vache

Chiffon pour toutes les vaches

Elimination des premiers jets : oui non Trempage des trayons : oui non Temps de traite :.....

Traite à part des vaches à mammites : oui non

Fréquence des mammites : élevée moyenne faible inexistant

Traitement des mammites par: Vétérinaire Technicien Trayeurs Traitement au tarissement : oui non

Fréquence de traitement :Médicaments utilisés :.....

Abattage des animaux dus aux mammites : non oui combien de cas :.....

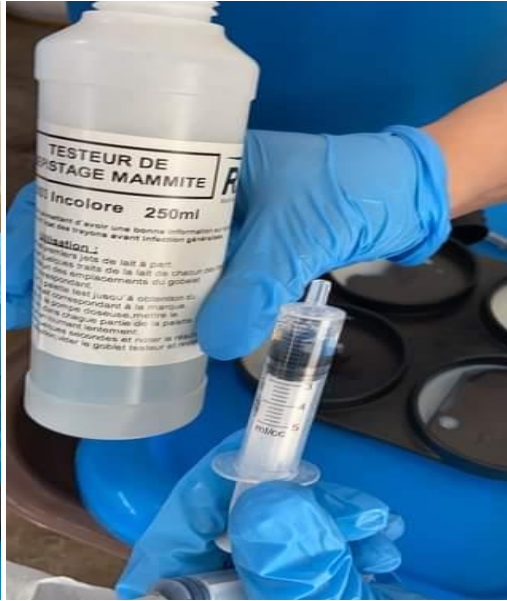
Mammite survient quelques jours après une antibiothérapie intramammaire et uniquement sur des animaux traités (récidive) : non oui combien de cas :.....

Mammite rencontré pendant : Lactation Tarissement Dans les deux phases



Annexe

Annexe 03 : Le test de mammite de Californie (CMT – *California Mastitis Test*)



Annexe

Annexe 04 : Préparation du milieu de gélose Columbia au sang



Tableau 01 : Les ingrédients de la préparation de milieu gélose au sang

| Produit | Quantité |
|-----------------|----------|
| Columbia | 42,5 |
| L'eau distillée | 1L |

Annexe

Annexe 05 : Préparation du milieu gélose de Saboraud au chloramphénicol

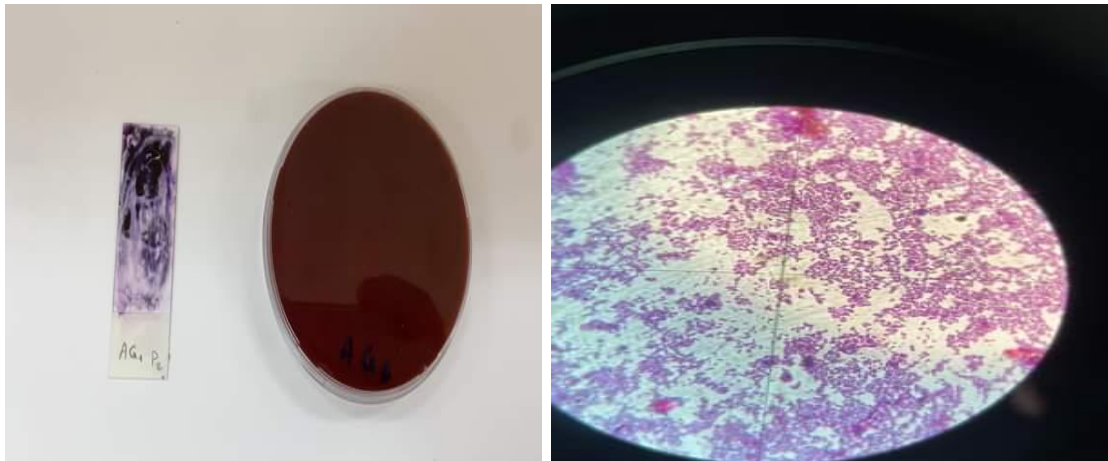


Tableau 02 : Les ingrédients de la préparation de milieu gélose de saboraud au chloramphénicol

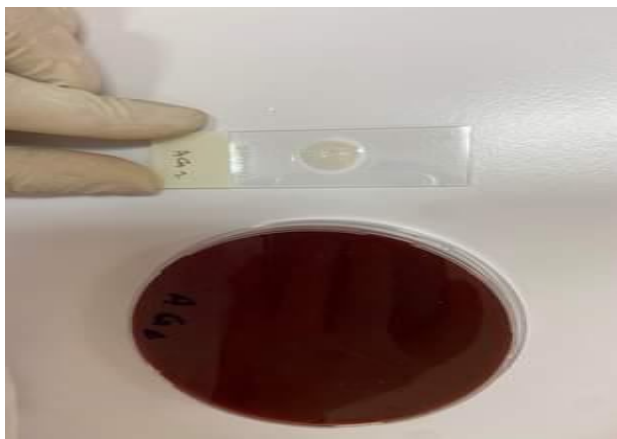
| Produit | Quantité |
|---------------------------------------|----------|
| Gélose de saboraud au chloramphénicol | 45,5 |
| L'eau distiller | 1L |

Annexe

Annexe 06 : Aspect microscopique , test catalase et coagulase .



Test + : Staphylocoque



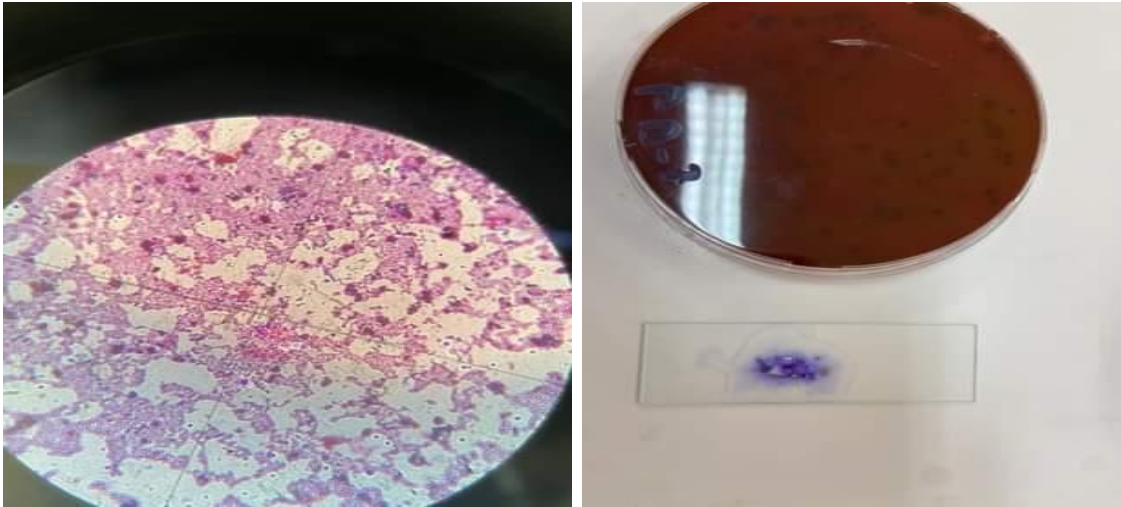
Teste coagulase + : Staphylococcus aureus



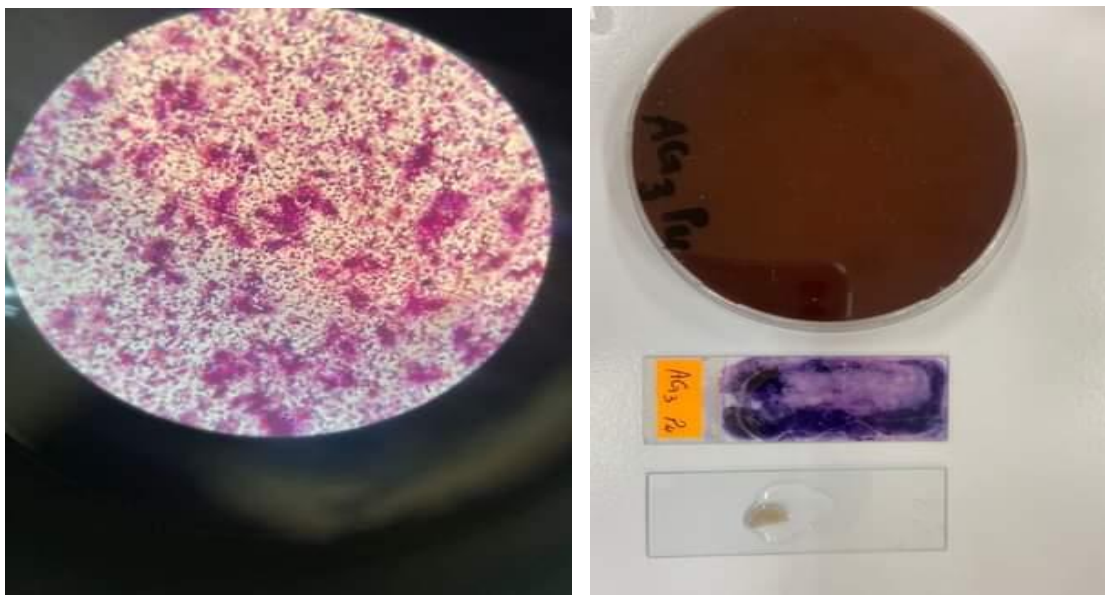
Annexe

Annexe 07 : Aspect microscopique et le test d'oxydase.

Test + : Pseudomonas



Test - : Enterobactérie



Annexe

Annexe 08



ملخص:

تم إجراء فحص التهاب الضرع تحت السريري عن طريق اختبار CMT في الدراسة الحالية خلال الفترة ما بين أبريل ومايو 2022 على إجمالي 175 عينة حليب تنتمي إلى 45 بقرة حلوب من مزرعة مخاضة نافع التجريبية. الهدف الثاني من هذه الدراسة هو دراسة العوامل الميكروبية عن طريق زراعتها على وسط كولومبيا مع 5% دم ووسط سابورو مع الكلورامفينيكول عند 0.5 جرام / لتر. تظهر التحليلات الميكروبيولوجية انتشارًا عاليًا جدًا للعوامل الميكروبية بنسبة 45.14% والتي تعتبر المسببات البكتيرية أهمها (43.43%) مقابل معدل عوامل فطرية غير مهمة (5.14%). يمكن تفسير هذا المعدل المرتفع للغاية من خلال نتائج التحقيق في حالة قذارة هذا التكاثر الذي تم خلال هذه الدراسة والذي يشير إلى أن المماثلة غير نظيفة. سمحت لنا التحليلات البكتريولوجية بتسجيل المكورات العنقودية الذهبية باعتبارها البكتيريا الأكثر شيوعًا. بالإضافة إلى ذلك، ساعدتنا التحليلات الفطرية في اكتشاف عدة أنواع من الفطريات، ولا سيما بينيسيليوم اكسونوسوم واسبرجيليس فيميغاتيس دراسة توزيع حالات التهاب الضرع الجرثومي تحت الإكلينيكي، قادتنا إلى وصف أن الحالات لوحظت أكثر بكثير في الأبقار متعددة الوالدات من سلالة بريم هولشتاين خاصة في بداية ونهاية الرضاعة. بالإضافة إلى ذلك، تم تسجيل التهاب الضرع المختلط تحت الإكلينيكي على 3.43% من العينات المأخوذة خلال هذه الدراسة، وكان الارتباط الأكثر شيوعًا بين ستافيلوكوكيس اووريبس و بينيسيليوم اكسونوسوم.

أخيرًا تم اكتشاف جميع الأنواع الميكروبية تقريبًا في الأحياء من جميع درجات CMT من 1 إلى 4. بشكل عام، أجبرتنا نتائج هذا المسح على إبراز معدل التهاب الضرع تحت الإكلينيكي الذي يصل إلى 100%، مع العلم أنه في المزرعة المدروسة، الحليب مخصص للاستهلاك الأدمي. هذا يشكل خطراً على الصحة العامة. هذا هو السبب في نهاية هذه الدراسة، لمنع أي خطر من تلوث الإنسان أو تلوث الحيوانات الأخرى، من الضروري اكتشاف الحليب من التهاب الضرع تحت الإكلينيكي واستبعاده من الاستهلاك المباشر أو تصنيع منتجات الألبان، مما يوضح بوضوح الأهمية الاقتصادية لهذا الكيان المرضي.

الكلمات المفتاحية: التهاب الضرع تحت السريري، CMT، اللبن، الربع، الغدة الثديية، التحليلات الميكروبيولوجية.

Abstract :

Subclinical mastitis screening using the MTC test was conducted in this study between April and May 2022 on a total of 175 milk samples from 45 dairy cows from the MeckanchaNafaa pilot farm. The second objective of this study is to study microbial agents by culturing on the Columbia medium in blood 5% and the Sabouraud chloramphenicol medium at 0.5 g/l. Microbiological analyses show a very high prevalence of agents of microbial origin of 45.14% whose bacterial etiology is the most important (43.43%) against a significant rate of mycotic agents (5.14%). This very high rate can be explained by the results of the investigation of the state of dirt of this farm which was carried out during this study and which indicate that the housing is dirty. The bacteriological tests allowed us to record *Staphylococcus aureus* as the most common bacterium. In addition, mycological analyses helped us detect several species of fungi including *Penicillium expansum* and *Aspergillus fumigatus*.

The study of the distribution of cases of microbial subclinical mastitis encouraged us to describe that the cases are observed much more in the multipares cows of the Prim'Holstein breed especially in the beginning and the end of lactation. In addition, Mixed subclinical mastitis was recorded in 3.43% of the samples taken in this study with the most frequent association between *Staphylococcus aureus* and *Penicillium expansum*. Finally, almost all microbial species were detected on the quarters of all CMT scores from 1 to 4. In general, the results of this survey, forced us to highlight the rate of subclinical mastitis that reaches 100%, knowing that on the holding under study milk is intended for human consumption. This constitutes a danger to public health. Therefore, at the end of this study, in order to prevent any risk of human or other animal contamination, it is essential to detect subclinical mastitis milks and to exclude them from direct consumption or manufacture of dairy products, This illustrates the economic importance of this pathological entity.

Keywords: Subclinical mastitis, CMT, milk, quarter, mammary gland, microbiological analyses.

Résumé :

Le dépistage des mammites subcliniques par le test de CMT a été réalisé dans la présente étude durant la période entre avril et mai 2022 sur un total 175 échantillon de laits appartenant de 45 vaches laitière de la ferme pilote MeckanchaNafaa. Le deuxième objectif de cette étude, est d'étudier les agents microbiens par la mise en culture sur le milieu de Columbia au sang à 5% et le milieu de Sabouraud chloramphénicol à 0.5g/l. Les analyses microbiologiques fait apparaitre une prévalence très importante des agents d'origine microbienne de 45.14% dont l'étiologie bactérienne est la plus importante (43.43%) contre un taux des agents mycosiques non négligeable (5.14%). Ces taux très élevés, peut être expliqué par les résultats de l'enquête de l'état de saleté de cet élevage qui a été réalisée au cours de cette étude et qui indiquent que la stabulation est sale. Les analyses bactériologiques nous ont permis d'enregistrer *Staphylococcus aureus* comme la bactérie la plus fréquente. Par ailleurs, les analyses mycologiques, nous ont aidés à détectés plusieurs espèces de champignons notamment *Penicillium expansum* et *Aspergillus fumigatus*. L'étude de la répartition des cas de mammites subcliniques microbiennes, nous a incite à décrire que les cas sont observés beaucoup plus chez les vaches multipares de la race Prim'Holstein surtout au début et à la fin de la lactation. De plus, les mammites subcliniques mixtes ont été enregistrées sur 3.43% des échantillons effectués durant cette étude dont l'association la plus fréquente est entre *Staphylococcus aureus* et *Penicillium expansum*. Finalement, presque toutes les espèces microbiennes ont été détectées sur les quartiers de tous les scores CMT de 1 à 4. En général, les résultats de cette enquête, nous ont obligés de mettre en exergue sur le taux des mammites subcliniques qui atteint 100%, sachant que dans l'exploitation étudiée, le lait est destiné à la consommation humaine. Ce qui constitue un danger pour la santé publique. C'est pourquoi au terme de cette étude, pour prévenir tout risque de contamination humaine ou celle d'autres animaux, il est indispensable de déceler les laits de mammites subcliniques et de les exclure de la consommation directe ou de la fabrication de produits laitiers, ce qui illustre bien l'importance économique de cette entité pathologique.

Mots clés : Mammite subclinique, CMT, lait, quartier, glande mammaire, analyses microbiologiques.