

Université Ibn Khaldoun, Tiaret  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



## Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

### Master académique

en

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie.  
**Filière :** Sciences Biologiques.  
**Spécialité :** Biologie Moléculaire et Cellulaire

Présenté par :

KHELIFI Nebia, HAMMOU Nabila & SELLAOUI Hadjira

Intitulé

### **Identification des germes responsables des mammites subcliniques chez le cheptel bovin dans la région de Tiaret.**

Soutenu publiquement le 03/07/2018.

Devant les membres de jury :

Président	Dr. TAÏBI K.	MCA
Examineur	Dr. TADJ A.	MAA
Examineur	Dr. YEZLI W.	MCB
Encadreur	Dr. ACHIR M.	MCB
Co-encadreur	Dr. AIT ABDERRAHIM L.	MCB

## REMERCIEMENTS

Tout d'abord nous tenons à remercier «ALLAH» le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force de mener à bien ce modeste travail.

On tient à adresser nos sincères remerciements et le grand respect à Dr. ACHIR M. pour avoir proposé ce sujet si intéressant ainsi que pour son encadrement, son orientation, son aide et ses conseils.

On tient à adresser nos plus vifs remerciements à Dr. AIT ABDERRAHIM L. qui nous a permis de réaliser ce travail sous sa direction. Nous n'oublierons jamais sa disponibilité, son assistance et ses conseils judicieux pour nous, malgré ses nombreuses occupations.

Nos considérations et nos remerciements spéciaux et infinis à Dr. TAIBI K. pour son aide.

On remercie les membres du jury Dr. TAIBI K., Dr. YEZLI W. et Dr. TADJ A. d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail, nous vous en sommes très reconnaissantes.

Nous tenons à remercier M. KHAN M., M. SAID A. et M<sup>elle</sup> SOUALMI K. pour leur aide.

Enfin, nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## *Dédicace*

A mon Papa et ma Maman, qui m'ont offert ces belles études et qui ont surtout toujours été là pour moi. Pour m'avoir permis de devenir ce que je suis. Pour avoir supporté mon stress et mes « ça va pas aller » pendant toutes ces années ;

Je Vous aime très fort.

A mes deux sœurs adorées Amel et Siham et mes deux frères Sofiane et Ayoub ; pour leurs encouragements.

A mes amis : Abir, Houda, Siham, Denia, Imen, Sabrinah Rachida, Nebia, les plus belles rencontres de mes années d'études ; Pour leur sincère amitié  
Merci pour tous ces merveilleux moments passés ensemble je vous aime.

À tous ces intervenants,

Je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

*Nabila*

## ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail. A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.*

*J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.*

*A mes chères sœurs et mes chers frères*

*A mes chères amies: Asmaa, Amel, Khouloud, Asmaa, Sarah, Nawel, Souad, Bochra, Amina, Fatima, Imen, Hanane et Djihad*

*A tout la famille, surtout ma sœur Malika*

*A tous mes collègues de promotions 2018 en particulier Nabila et sa famille.*

*NEBIA*

## *Dédicace*

Je dédie ce travail, à mes parents, mes tantes, mes sœurs et mes frères, ainsi qu'à mon mari et mes beaux parents, qui m'ont encouragé à continuer mes études et qui m'ont soutenu par leur affection et leurs conseils.

Je le dédie également à Dr. AITABDERRAHIM L., la bonne dame respectable et respectueuse, l'excellent professeur qui a bien su comment implanter en moi la maîtrise de la microbiologie, tout mon respect Madame et toute ma gratitude. Dr. TAIBI K., responsable de la spécialité, à vous aussi toute ma gratitude, merci beaucoup pour votre aide et remarques et pour votre encouragement et vos conseils précieux.

Merci à toute personne qui m'a aidé et qui m'a encouragé.

En fin je dédie ce travail à toutes les personnes anonymes qui vont lire cette recherche pour qu'elles en tirent profit, comme étude de sensibilisation.

*HADJIRA*

### الملخص

يعد التهاب الضرع دون السريري من أكثر الأمراض شيوعًا التي تصيب الماشية ، كما أنه يحتل المرتبة الأولى من حيث الأثر الاقتصادي على مزارع الألبان، بالإضافة إلى التأثير على صحة الإنسان

كان الهدف من هذا العمل تحديد الجراثيم المسؤولة عن التهاب الضرع دون السريري في منطقة تيارت

تم استخدام اختبار التهاب الضرع للكشف عن التهاب ضرع البقر في المزرعة. تم إجراء تحليل ميكروبيولوجي على ست عينات حليب كانت إيجابية للاختبار ، لتأكيد وجود العدوى وتحديد العوامل المسببة للأمراض.

كشفت النتائج هيمنة البكتيريا التي تنتمي إلى جنس العصوية 42% والمكورات العنقودية الذهبية (23.7%). ومع ذلك ، تم عزل غيرها من العوامل الممرضة الصغيرة مثل عصية الجمره الخبيثة ، وبكتيريا المكورات الأخرى، وخمائر، والاكثينوبكتيريا.

التشخيص لمسببات للمرض مفيد في تحديد نموذج الانتقال السائد ، أي نموذج الحلب أو النموذج البيئي ، من أجل اتخاذ قرار بشأن استراتيجية الوقاية والسيطرة المناسبة

**الكلمات المفتاحية:** الحليب ، التهاب الضرع دون السريري ، اختبار كاليفورنيا لالتهاب الضرع.

## Résumé

Les mammites subcliniques constituent une des affections bovines les plus fréquentes et occupent par ailleurs le premier rang en termes d'impact économique au sein des élevages laitiers, en plus de l'impact sur la santé humaine.

L'objectif de ce travail a été d'identifier les germes responsables des mammites subcliniques dans la région de Tiaret.

Le test de mammite de Californie a été utilisé pour détecter la mammite dans l'exploitation dont la positivité a été indiquée. Une analyse microbiologique a été réalisée sur six échantillons de lait positifs, afin de confirmer la présence d'une infection et d'identifier les pathogènes responsables.

Les résultats ont révélé la prédominance de bactéries appartenant au genre *Bacillus* (42 %) et de *Staphylococcus aureus* (23.7 %). Cependant, d'autres agents pathogènes mineurs ont été également isolés tels que *Bacillus anthracis*, d'autres bactéries du genre *Staphylococcus*, des cocci à Gram positif, des levures et des actinobactéries.

Ce diagnostic étiologique est utile à la détermination du modèle de transmission dominant, à savoir modèle de traite ou modèle environnemental afin de décider d'une stratégie de prévention et de lutte adéquate.

**Mots clés :** lait, mammite subclinique, California Mastitis Test.

## Abstract

Subclinical mastitis is one of the most common cattle diseases and also ranks first in terms of economic impact in dairy farming, in addition to the impact on human health.

This study aimed to identify the germs responsible for subclinical mastitis in the region of Tiaret.

The California Mastitis Test was used to detect mastitis in the farm cows. Microbiological analysis was performed on six positive milk samples to confirm the presence of infection and to identify the pathogens responsible of mastitis.

Results revealed the predominance of bacteria belonging to the genus *Bacillus* (42 %) and *Staphylococcus aureus* (23.7 %). However, other minor pathogens have also been isolated such as *Bacillus anthracis*, other *Staphylococcus* bacteria, Gram-positive cocci, yeasts and actinobacteria.

This etiological diagnosis is useful for determining the dominant transmission model, namely a milking model or environmental model, in order to decide on an appropriate prevention and control strategy.

**Keywords:** milk, subclinical mastitis, California Mastitis Test.



## Liste des abréviations

CMT. California Mastitis test

CCSI. Concentration cellulaire somatique individuelle

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Schéma structural de la glande mammaire bovine et de l'organisation d'une Alvéole (Jammes et Djiane, 1988).....	02
<b>Figure 2.</b> Pis atteint de mammite clinique.....	04
<b>Figure 3.</b> Pis atteint de mammite subclinique.....	05
<b>Figure 4.</b> Lignes de défense de la mamelle (De Crémoux, 2012).....	05
<b>Figure 5.</b> Principe du test CMT.....	13
<b>Figure 6.</b> Etapes de réalisation du test CMT .....	17
<b>Figure 7.</b> Etapes de l'isolement et purification des microorganismes à partir du lait.....	19
<b>Figure 8.</b> Test de catalase.....	20
<b>Figure 9.</b> Test Mannitol-Mobilité.....	20
<b>Figure 10.</b> Test Citrate de Simmons.....	21
<b>Figure 11.</b> Test TSI.....	22
<b>Figure 12.</b> Test ONPG.....	22
<b>Figure 13.</b> Test Urée-Tryptophane.....	23
<b>Figure 14.</b> Test de la Tryptophanase.....	23
<b>Figure 15.</b> Test de la Tryptophane Désaminase (TDA).....	24
<b>Figure 16.</b> Recherche des décarboxylases ADH, ODC et LDC.....	24
<b>Figure 17.</b> Fréquences des isolats dans l'ensemble des laits mammiteux testés.....	33

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Pourcentage des isolats obtenus de chaque échantillon de lait testé....	25
<b>Tableau 2.</b> Isolats obtenus après purification et observation microscopique à partir des échantillons de laits mammitieux .....	25
<b>Tableau 3.</b> Aspect macroscopique et microscopique (grossissement x 100) des isolats obtenus des échantillons de laits mammitieux.....	26
<b>Tableau 4.</b> Identification biochimique des isolats sélectionnés .....	30
<b>Tableau 5.</b> Isolats identifiés à partir des échantillons de laits mammitieux .....	32

# *Introduction*

### Introduction

Le lait de vache est considéré comme un aliment stratégique. Il constitue une source essentielle de protéines d'origine animale et demeure le produit de base du régime alimentaire. Sa richesse en éléments nutritifs crée un environnement propice au développement de différents types de micro-organismes dont certains sont pathogènes et peuvent causer différentes maladies (Petranxiene et Lapied, 2002).

En l'occurrence, la mammite est considérée comme l'une des pathologies les plus graves affectant le secteur laitier (Kadja et al. 2010). Il s'agit de l'inflammation d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle. Elle se manifeste par des changements inflammatoires dans les glandes mammaires influençant le processus de synthèse du lait sur le plan qualitatif et quantitatif (Heeschen et Reichmuth, 1995).

L'infection peut se traduire par des signes cliniques locaux et même des signes généraux, elle est dite mammite clinique. Un autre type de mammite se passe sous forme inaperçue sans symptômes ni altération visible du lait, il se manifeste seulement par une augmentation du taux des leucocytes et des cellules épithéliales détectées par divers tests cellulaires, ces mammites sont dites sub-cliniques (Bradley, 2002).

Economiquement parlant, cette pathologie génère des pertes importantes pour les éleveurs liées principalement à la diminution de la production laitière et le coût très cher pour traiter la maladie (Shyaka, 2007).

Plusieurs études se sont intéressées à cette pathologie et ont porté essentiellement sur l'aspect microbiologique et ont montré toutes que la détermination exacte de l'identité des germes responsables de la mammite est essentielle pour l'orientation du choix thérapeutique (Belschner et al. 1996).

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail qui consiste à isoler puis identifier les germes responsables des mammites subcliniques qui affectent le cheptel bovin dans la région de Sougueur (Tiaret, Algérie) dans la perspective de déterminer une éventuelle solution thérapeutique à cette pathologie.

*Synthèse*  
*bibliographique*

## Synthèse bibliographique

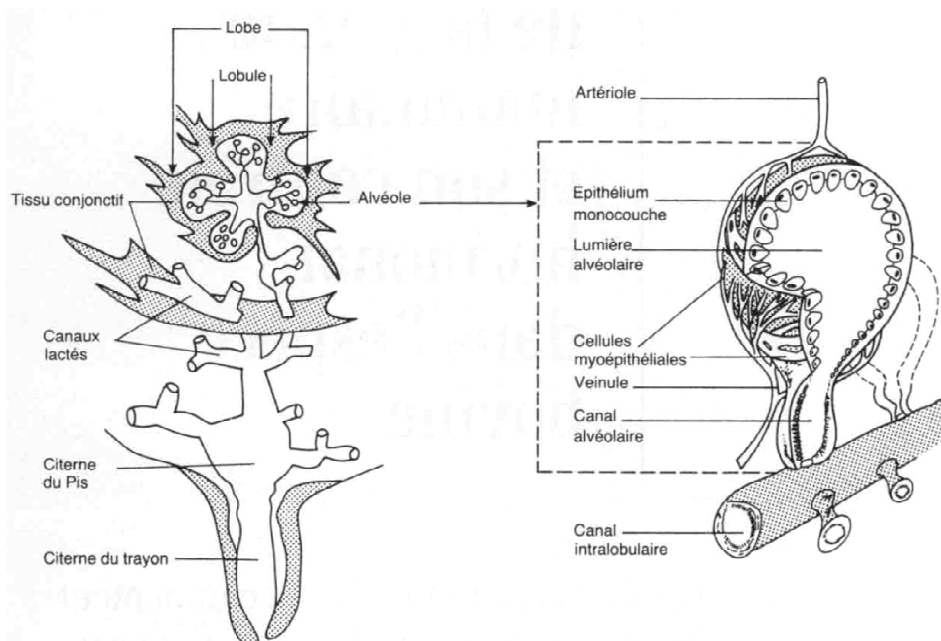
### 1. Glande mammaire et mamelle bovine

La glande mammaire est un organe dynamique dédié à la production de lait et dont les cellules sont renouvelées à 50 % au cours d'une lactation. Elle est constituée de tissu sécréteurs et de tissu conjonctif Les cellules épithéliales mammaires sécrétrices sont responsables de la production de lait. Le nombre et l'activité de ces cellules varient au cours de la lactation. En effet, lorsqu'ils sont élevés la production de lait est élevée à l'inverse lorsque ceux-ci diminuent, la production diminue (Dufreneix, 2015).

La mamelle est quant à elle l'organe suspendu à l'extérieur de la cavité abdominale. Elle permet au jeune veau de s'y alimenter (Wattiaux, 2015).

#### 1.1. Rappels anatomiques

La mamelle se compose de quatre glandes mammaires ou "quartiers" séparées physiquement. Chaque quartier fonctionne indépendamment des autres et délivre le lait à travers le trayon. Chaque quartier contient des acini mammaires, également connus sous le nom d'alvéoles glandulaires (Fig. 1). La plus grande partie du lait, qui est synthétisé en continu dans la zone alvéolaire, (60-80 %) est stockée dans les alvéoles et les petits canaux à lait, tandis que la citerne contient 20-40 %. Cependant, il y a des différences relativement grandes entre les vaches laitières en ce qui concerne la capacité de la citerne (Remy, 2010).



**Figure 1.** Schéma structural de la glande mammaire bovine et de l'organisation d'une alvéole (Jammes et Djiane, 1988).

### 2. Les mammites

### 2.1. Définition

La mammite est une inflammation de la glande mammaire et des tissus de la mamelle (un ou plusieurs quartiers), elle peut être d'origine traumatique, chimique, physique ou biologique (Hanzen et al. 2010). C'est une maladie endémique majeure et la plus coûteuse économiquement affectant les bovins laitiers (Saini et al. 2012).

Les inflammations d'origine infectieuse sont les plus fréquentes et dans la majorité des cas dues à des bactéries. Les bactéries les plus incriminées sont les *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, autres staphylocoques à coagulase négative (CNS) et *Escherichia coli* (Reschke, 2017).

L'inflammation provoque une augmentation de la concentration cellulaire du lait (150000 cellule/ ml) (Barone, 1990).

La mammite constitue une préoccupation majeure et quotidienne pour les éleveurs laitiers et peut aussi affecter la santé du consommateur de lait et de ses dérivés (M'sadak et Hamed, 2017).

### 2.2. Aspect clinique

La mammite se manifeste chez la vache par (Issa Ibrahim, 2015) :

- Un changement non clinique de la sécrétion de lait : réduction de la production et augmentation du nombre de cellules somatiques sans signes cliniques ;
- Un changement de la sécrétion suivi de signes cliniques fonctionnels (grumeaux, caillots ou caillots sanguins, pus de lait), de signes cliniques locaux (enflure, chaleur, douleur, rougeur) et de signes cliniques généraux (température élevée, avec ou sans appétit et parfois décubitus, choc).

#### 2.2.1. Mammite clinique

La mammite clinique est définie comme une glande mammaire ayant des sécrétions lactées modifiées (plus aqueuses, présence des grumeaux, etc.) avec ou sans des signes cardinaux de l'inflammation (enflure, douleur, chaleur, et rougeur) (Descoteaux, 2004).

Elle est dite aiguë ou suraiguë dans la situation de changement soudain et chronique lorsque la situation est récurrente ou continue. Elle peut aussi être qualifiée de mammite clinique bénigne (sécrétion lactées modifiée sans l'inflammation du pis) ou modérée (sécrétion lactée modifiée avec l'inflammation du pis) (Baillargeon, 2010). Par ailleurs, lorsque la mammite cause des signes cliniques en dehors de la glande mammaire telles que la fièvre, la déshydratation de l'animal, la baisse ou une arrête de l'appétit etc., ces signes sont généralement liés à la présence d'une mammite clinique aiguë ou suraiguë sévère ou toxique (Erskin, 2004).





**Figure 2.** Pis atteint de mammite clinique.

### **2.2.2. Mammite subclinique**

La mammite subclinique est insidieuse et caractérisée par l'absence de symptômes cliniques. Le lait et le quartier apparaissent normaux. Les inflammations causées par des infections sont essentiellement associées à l'entrée de cellules somatiques dans le lait de la zone infectée, en particulier les neutrophiles, et à un changement dans la composition chimique du lait (réduction de la teneur en caséine et en lactose, augmentation de la teneur en électrolytes, etc.). La mammite subclinique peut guérir spontanément ou rester au même stade plusieurs mois (Lévesque, 2006; Remy, 2010).

Le diagnostic de la mammite subclinique est basé sur le comptage des cellules du corps dans le lait, la détection des changements chimiques et la recherche des bactéries en cause (Bardiau et al. 2014). Le test du comptage des cellules somatiques (SCC : Somatic Cell Count) et le test de mammite de Californie (CMT : California Mastitis Test) sont le plus souvent utilisés (Lévesque, 2006).

Une mammite subclinique peut être la résultante de deux phénomènes (Remy, 2010) :

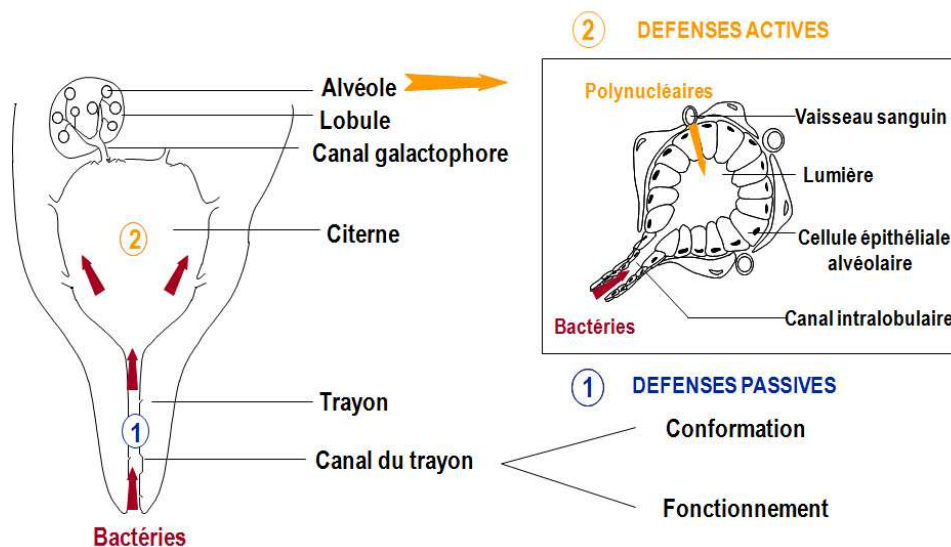
- d'une infection ayant entraîné une mammite clinique lors de la contamination d'un quartier et que le traitement n'a pas réussi à éliminer totalement ;
- de la contamination d'un quartier par un agent infectieux peu agressif et qui n'a pas occasionné de signes cliniques mais qui s'est installé durablement dans la mamelle.



**Figure 3.** Pis atteint de mammite subclinique.

### 3. Mécanismes de défense de la mamelle

Le lait d'une mamelle saine est stérile et contient relativement peu de cellules. La structure du trayon, sa conformation, le fonctionnement de la mamelle (et notamment le flux de lait) (Fig. 4) constituent autant de défenses (défenses passives) face aux bactéries susceptibles de coloniser la mamelle (De Crémoux, 2012).



**Figure 4.** Lignes de défense de la mamelle (De Crémoux, 2012).

#### 3.1. Au niveau du trayon

Le canal du trayon est le principal point d'entrée des bactéries de la mammite et la première ligne de défense de la glande mammaire. L'extrémité distale du canal du trayon est normalement fermée par les muscles du sphincter, empêchant l'entrée de pathogènes (Pauline, 2015). La paroi interne du canal de traite est recouverte de kératine, qui empêche

la migration bactérienne, et contient des acides gras à longue chaîne qui préviennent l'infection (Pauline, 2015). Cependant, l'efficacité de ces mesures défensives se limite à l'approche de la parturition, car elles entraînent une augmentation de la pression intra mammaire, ce qui entraîne l'élargissement du canal et la perte des sécrétions mammaires (Rainard et al. 1990).

### **3.2. Défenses hautes de la mamelle**

La pénétration d'agents pathogènes dans le pis provoque une réponse immunitaire, cellulaire et biochimique. Les polynucléaires arrivent en grand nombre vers le pis à travers la circulation sanguine afin de détruire les pathogènes (Risco et Melendez, 2011).

Le mécanisme de défense consiste à une action simultanée des macrophages et les polynucléaires neutrophiles qui phagocytent les bactéries. En plus, les lymphocytes T cytotoxiques causent l'apoptose dans les cellules blessées ou infectées, les lymphocytes T avec les lymphocytes B participent à la production d'anticorps (Rémy, 2010). Ces défenses diminuent la sensibilité de la mamelle aux infections (Blowey et Edmondson, 2010).

### **4. Installation des agents pathogènes responsables des mammites**

Les pathogènes sont principalement transmis des galactogènes aux pis par le canal du trayon, à l'exception de certaines bactéries qui peuvent se retrouver dans le sang du pis (Remy, 2010). La contamination du pis se fait lorsque le sphincter est ouvert, pendant et après la traite, la déshydratation et le vêlage, cette contamination peut être causée par la croissance d'agents pathogènes sur la peau des trayons causée par des lésions des trayons (Blowey et Edmondson, 2010).

Lorsque les pathogènes débordent la défense passive du trayon, ils colonisent les canaux galactophores. Ils peuvent être évacués par expulsion du lait. Certaines bactéries ont la capacité d'adhérer à l'épithélium, de pénétrer et de se multiplier (Seegers et al. 1997). A l'intérieur des cellules, les bactéries s'échappent de nombreux mécanismes de défense, libérant des toxines en combinaison avec un passage polynucléaire, les neutrophiles du sang dans le pis augmentent la perméabilité de l'épithélium, stimulant les bactéries à pénétrer dans le parenchyme mammaire et même dans la circulation sanguine. (Remy, 2010). Les inflammations causées par la prolifération de bactéries dans le parenchyme de la mamelle provoquent une hyperplasie du tissu intercellulaire formé autour de l'infection, qui forme des grumeaux denses qui peuvent être détectés par une palpation mammaire ronde (Blowey et Edmondson, 2010).

### 4.1. Devenir de l'infection

D'après Blowey et Edmondson (2010), les interactions entre le système immunitaire et les pathogènes, peuvent se présenter sous trois situations possibles:

- la guérison; l'infection est éliminée avec ou sans forme cliniquement visible par la réponse immunitaire (les cellules gagnent).
- l'aggravation: la réaction du corps est surmontée, l'infection progresse dans la mamelle causant une mammite clinique ou subclinique,
- situation intermédiaire: élimination incomplète des pathogènes; c'est-à-dire il n'y a pas de mammite visible mais la vache a conservé des cellules.

### 5. Etiologie des mammites subcliniques

Seules cinq espèces bactériennes sont responsables de 90 % des infections mammaires. La mammite subclinique est principalement causée par des Staphylocoques, des Streptocoques et *Escherichia coli* (Roussel, 2008; Reschke, 2017).

Parmi les Staphylocoques, *S. aureus* est l'agent fréquemment en cause des mammites chez les vaches primipares et multipares (Simon, 2011). Ce germe est présent partout à la surface de la peau et des muqueuses et en particulier au niveau des trayons, toutes lésions de ces derniers, favorisent sa multiplication (Durel et al. 2004). *S. aureus* est résistant dans le milieu extérieur. Il peut, s'il y a un défaut d'hygiène au moment de la traite ou un dysfonctionnement de la machine à traire, se retrouver dans les gobelets trayeurs. La contamination d'une vache à une autre, se réalise par ceux-ci et aussi par les mains du trayeur ou par des mouchoirs. Une fois introduit dans le canal du trayon, il envahit les canaux galactophores et colonise rapidement les cellules épithéliales (dès 24 heures), ils se multiplient assez lentement, atteignant un pic entre 2 et 11 jours, selon l'animal. La concentration de bactéries dans le lait reste faible et peut être détectée après 4 jours (Salat et al. 2007).

En outre, dans le groupe des Streptocoques, *Streptococcus agalactiae* est fréquemment incriminé dans les mammites. Cette bactérie possède une capsule de polysaccharide à effet antifagocytaire, bien que cet effet puisse être inhibé par des anticorps spécifiques. Il se lie directement à l'épithélium des canaux galactophores (Remy, 2010).

*Streptococcus dysgalactiae* est lui aussi l'un des agents pathogènes environnementaux les plus courants pouvant causer la mammite bovine (Atroshi et al, 1996). Il se développe principalement sur les lésions des trayons, mais peut

aussi être retrouvé sur les pis et les poils mammaires, ce germe a aussi la particularité d'être transmissible par certains insectes lors d'une piqûre sur la mamelle. On retrouve souvent une coinfection *S. dysgalactiae* - *S. aureus* (Roussel, 2008).

Plusieurs travaux (Durel et al. 2004; Faroult et Arzul, 2005) ont montré que *Streptococcus uberis* est aussi capable d'infecter différents organes et de se multiplier partout, il est très présent dans l'environnement. *Streptococcus uberis* est responsable de la mammite clinique et de la mammite subclinique (Faroult et Arzul 2005).

*Escherichia coli* est un germe de la famille des Enterobacteriaceae; c'est un bacille Gram négatif que l'on trouve en grande quantité dans la flore fécale et qui provoque une infection dans l'environnement dans lequel vivent les vaches (Durel et al. 2004). *E. coli* est souvent impliqué dans la mammite clinique, c'est une cause courante d'infection intra mammaires chez les bovins laitiers. Il est classé comme un pathogène opportuniste (Seegers et Serieys, 2002).

D'autres pathogènes mineurs responsables des mammites subcliniques sont :

- Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) : ce sont des bactéries vivant dans l'environnement. Leur prévalence est de plus en plus forte, ils sont décrits comme des agents pathogènes de mammite (Bravard et Schmitt-van de Leemput, 2006). Ils sont moins pathogènes que les pathogènes les plus importants. Ils causent habituellement une mammite subclinique, qui peut être permanente, avec des valeurs cellulaires modérées entre 200 000 et 400 000 cellules/ ml (Pyorala et Taponen, 2009). Selon Timms et Schultz (1987), la mammite à SCN réduit la production laitière de 8 à 10 %.

- *Corynebacterium bovis* : est un bacille commensal de l'extrémité du trayon. D'après Hogan et al. (1999), il est responsable de la mammite subclinique avec une forte augmentation des niveaux cellulaires en combinaison avec d'autres pathogènes, surtout lorsqu'il n'y a pas une désinfections des trayons.

### **6. Facteurs de risque des mammites bovines**

Les mammites subcliniques sont des affections insidieuses provoquées par des microorganismes (Kalandi et al. 2017). Un ensemble des facteurs interviennent et qui sont liés d'une part aux animaux (facteurs génétiques, stade de lactation, morphologie de la mamelle et santé) et d'autre part aux conditions d'élevage (logement et traite) et aux facteurs liés à l'environnement (Bouaziz, 2005). Klastrup et al. (1987) estiment que 25 % de la susceptibilité à l'infection est due à des facteurs environnementaux, 20 % à des facteurs génétiques et 50 % à la gestion de troupeau.

### **6.1. Facteurs liés à l'animal**

#### **a. Facteurs génétiques**

Les études menées sur le facteur héréditaire lié à la susceptibilité à la mammite ont montré que toutes les races laitières ne sont pas également sensibles à la mammite. Les grands producteurs sont plus susceptibles d'être touchés. Ainsi les facteurs héréditaires représentent 12 à 20 % de la susceptibilité à la mammite dans la même race. Au niveau génétique, il existe une corrélation entre le pourcentage de matière grasse du lait et l'incidence de la mammite clinique. Plus une lignée de vaches donne du lait gras, plus elle est sensible à la mammite (Vaamonde et Adkinson, 1989).

#### **b. Stade de lactation**

Au sein des deux premier mois de lactation, le risque d'infection est plus élevé (Erskine et al. 1987); près de 30 % des cas cliniques sont observés dans le premier mois de lactation (Lescouret et al. 1995). Chez les génisses, la plupart des infections apparaissent dans le mois qui suit le vêlage (Morse et al. 1987). Et même, pendant les 2 premières semaines chez les primipares (Barkema et al. 1997).

Le tarissement est une période critique ; le risque associé à cette période est 3 fois plus élevé que la fin de lactation (Oliver et Sordillo, 1988).

#### **c. Nombre de lactation**

La fréquence de l'infection augmente avec le nombre de lactation. Chez les vaches plus âgées, le sphincter des trayons a une perte d'élasticité, ce qui aide à réduire la distance entre les trayons et le sol et augmente la perméabilité du sphincter, ce qui favorise la contamination (Poutrel, 1985).

#### **d. Morphologie de la mamelle**

Le principal facteur de risque est la distance entre l'extrémité du trayon et le sol (Pluinage et al. 1991). La forme de l'orifice du trayon, la force du sphincter, la longueur et le diamètre du trayon et la forme (selon la vitesse de traite) et l'équilibrer des quartiers jouent également un rôle (Slettbakk et al. 1995).

#### **e. Le stress**

Plus un animal subit de stress dans son environnement, moins son système immunitaire est efficace et moins il est résistant aux invasions microbiennes, plus il y a de stress, plus la probabilité de mammite est grande (Giesecke, 1985).

### **6.2. Facteurs environnementaux**

#### **a. Climat**

Le climat peut avoir une influence directe ou indirecte sur l'apparition de la mammite; l'exposition au froid intense, aux courants d'air, à l'humidité excessive ou à la chaleur extrême conduisent à la mammite (Eckles, 1913). D'après Klastrup et al. (1987), le climat peut aussi avoir une influence indirecte. Par exemple, des conditions extérieures boueuses causées par de fortes pluies font prospérer certains micro-organismes et augmentent ainsi les risques d'infection.

#### **c. Stabulation**

La propreté des animaux fait partie de l'évaluation globale de l'hygiène générale de l'étable et représente une synthèse concrète des salissures causées par l'environnement et les facteurs pathogènes associés. Une litière insuffisamment préservée augmenterait le risque d'infection dans la mammite subclinique (Hutton et al. 1991). Dans certains types d'écuries la sensibilité à la mammite est plus élevée. Plus l'étable est longue et large, plus la liberté de mouvement de la vache est grande, moins il y a de blessures et moins il y a de mammites (Keller, 1977).

### **6.3. Facteurs nutritionnels**

Les liens entre la nutrition et la mammite soulèvent encore des questions dans la communauté scientifique. Ainsi et selon Hanzen, (2010), deux pratiques qui augmenteraient le risque de mammite sont les changements alimentaires rapides et un excès ou un déséquilibre des différents composants de la ration.

### **6.4. Facteurs liés aux conditions d'élevage**

#### **a. Conduite de traite**

Selon Bensouiah (2013), dans la plupart des exploitations, la traite se fait dans des conditions insalubres, car il n'y a pas d'équipement spécialisé. L'immersion des trayons dans un produit désinfectant recommandée à la fin de la traite n'est pas effectuée entièrement par la plupart des éleveurs.

#### **b. Machine à traire**

Les défauts liés au réglage de la machine à traire, à l'entretien, à l'équipement de traite ou à l'hygiène peuvent entraîner le développement de mammites dans le troupeau. Ces déficiences peuvent conduire à l'apparition de lésions sur le trayon, et par conséquent à une réduction des défenses de la mamelle, à la formation de nouvelles réserves de germes et enfin à la transmission de germes dans le quartier (Bouaziz, 2005).

### **c. Conduite sanitaire**

La plupart des éleveurs n'ont recours au suivi sanitaire rigoureux qu'en cas de pathologie en plus de l'absence de traitements préventifs surtout s'ils ne peuvent pas traiter avec leurs propres ressources.

La vaccination a pour objectif de protéger l'animal vacciné avec trois axes : diminuer la sévérité des signes cliniques et réduire le nombre de cas (Poutrel, 2014).

## **7. Importance de la mammite**

### **7.1 Importance médicale**

L'inflammation des vaches laitières est responsable d'une incidence très élevée de maladies dans les troupeaux laitiers. Dans le cas de la mammite clinique, le diagnostic des orbites aiguës est relativement simple, cependant, le nombre de vaches présentant ce type de mammite reste faible. Certaines de ces mammites sont mortelles, comme la mammite gangréneuse ou la mammite colibacillaire (Poutrel, 1985).

### **7.2 Hygiénique**

Selon divers études (Seegers et al. 1997; Bradley, 2002). La mammite affecte l'hygiène animale et éventuellement la santé publique. Le risque associé à la contamination du lait par certains germes fait l'objet d'inquiétudes de santé publique.

Le lait "mammiteux" peut être un vecteur d'infections d'origine alimentaire (salmonellose listériose, etc.).(Poutrel, 1985),

Sans pasteurisation, les pathogènes humains provenant de zones infectées peuvent contaminer les produits laitiers (Bradley, 2002; Seegers et al. 1997).

### **7.3. Impact économique**

La mammite est le trouble de santé le plus courant avec les effets économiques les plus importants chez les bovins laitiers (Poutrel, 1985; Seegers et al. 1997). Ces effets sont principalement dus à leur fréquence, aux coûts vétérinaires associés (honoraires, coûts de traitement) et à leurs effets qualitatifs et quantitatifs négatifs sur la production laitière. En effet, cette production est réduite, alors que le changement de composition du lait qui en résulte (diminution du lactose, des caséines, du calcium, du phosphore, augmentation des protéines solubles inutiles à la production de fromage) a un impact sur les capacités technologiques du lait (diminution des rendements en fromage, etc.). Cela conduit à des



pénalités pour les paiements de lait et à une rémunération plus faible pour l'agriculteur (Shyaka, 2007).

La mammites subclinique est encore plus coûteuse parce qu'elle est installée, plus silencieusement, avec des risques élevés de contamination et des pertes importantes liées aux changements quantitatifs et qualitatifs dans la production laitière (Coulon et Lescourret, 1997).

### **7.4. Impact technologique**

Les changements physico-chimique et biologique du lait dus à la mammites réduisent sa qualité technologique et interrompent sa transformation. Il en résulte une diminution du rendement en fromage, un changement de texture, de goût et d'odeur (Serieys, 1985). De plus, la persistance d'antibiotiques dans le lait après le traitement de la mammites entraîne l'inhibition de la flore lactique entraînant un mauvais égouttage et l'envahissement par la flore colibacillaire et par les moisissures (Shyaka, 2007).

## **8. Diagnostic des mammites subcliniques**

La détection des mammites subcliniques se fait par :

### **8.1. Mesure de la conductivité du lait**

Le lait contient des ions (ou électrolytes): du chlore, du sodium et du potassium responsables de la conductivité du courant électrique. Lors d'une mammites subclinique, la perméabilité des capillaires sanguins est augmentée, les lactocytes disparaissent de manière plus ou moins importante et les systèmes de pompage des ions sont donc altérés. L'ensemble de ces modifications va conduire à une baisse du lactose et du  $K^+$  dans le lait et à l'augmentation compensatoire du  $Cl^-$  et du  $Na^+$  pour assurer un équilibre osmotique. La teneur en chlorures du lait est ainsi proportionnelle au degré d'infection (Durel et al. 2004).

### **1.8.2. Le test (CMT)**

Le « California Mastitis Test » a été développé à la fin des années 1950 à l'université de Californie, c'est un test semi quantitatif basé sur l'action d'un détergent (solution de Teepol à 10 %) et d'un colorant (poupre de bromocrésol) il nécessite un plateau dit une coupelle à 4 cupules. Après le nettoyage des trayons, le lait des premiers jets de chaque quartier est mis dans une cupule. Le réactif est ajouté et mélangé aux échantillons de lait par rotation. La lecture se faite à l'aide d'une échelle de couleur et de viscosité qui changent tous les deux si le test est positif, indiquant ainsi la présence de cellules (Fogsgaard et al. 2012). Le détergent provoque la lyse des cellules du lait par la destruction de leur paroi, plus la concentration cellulaire est élevée, plus la quantité d'ADN libéré est

élevée et plus le flocculat sera important. Le colorant change de couleur en fonction du pH. Le lait sain a un pH compris entre 6,5 et 6,7. En cas de mammite, le pH s'approche de 7 (Shyaka, 2007).



**Figure 5.** Principe du test CMT.

### **8.3. Comptage cellulaire : Concentration cellulaire somatique individuelle (CCSI)**

Le mécanisme infectieux bactérien déclenche l'immunité de la vache et ainsi l'augmentation du taux des leucocytes dans le lait. Selon Risco et Melendez (2011), lorsqu'un quartier est infecté subcliniquement par une bactérie pathogène, le résultat du CCSI est compris entre 200 000 et plus de 10 000 000 cellules/ ml.

### **8.4. Analyse microbiologique**

Ce diagnostic étiologique consiste à ensemencer des géloses sélectives par des préparations du lait diluées et les mettre dans l'incubateur pendant 24 heures à 37°C. L'aspect des colonies formées et la réalisation des tests enzymatiques permettent l'identification des microorganismes en cause (Schmitt-Van de Leemput et al. 2013).

## **9. Traitement des mammites subcliniques**

### **9.1. Anti-inflammatoires : anti-inflammatoires Stéroïdiens (ou corticoïdes) et anti-inflammatoires non-stéroïdiens**

Selon Le Page et al. (2014), le recours aux corticoïdes est controversé car ils favoriseraient des infections cliniques chez les vaches ayant une mammite subclinique à staphylocoques via la baisse de l'immunité qu'ils peuvent induire. Tandis que, l'ensemble des anti-inflammatoires non-stéroïdiens a un effet positif sur les signes cliniques de l'inflammation.

### **9.2. Antibiothérapie**

D'après Bosquet et al. (2013), le taux de guérison des mammites subcliniques par antibiothérapie durant la lactation est de 50 % en moyenne contre 70 à 80 % au tarissement.

### 9.3. Traitement homéopathique

#### 9.3.1 Biothérapie

Les biothérapies sont des médicaments d'origine microbienne non chimiquement définis (sécrétions, excréments pathologiques définies ou non). Trois biothérapies sont intéressants (Labre, 2009) :

- Colibacillinum en cas de mammite subclinique à *E. coli*
- Staphylococcinum en cas de mammite subclinique à *S. aureus*
- Streptococcinum en cas de mammite subclinique à *S. uberis*.

#### 9.3.2 Isothérapie

Les isothérapies sont aussi des biothérapies préparés extemporanément à partir d'une souche fournie par la vache elle-même (Maillot, 2013). Dans le cas des mammites subcliniques, la fabrication d'un isothérapique peut être intéressante. En effet, et selon (Issautier, 2013) : « les mammites subcliniques sont des pathologies de groupe ». Les deux types de souches isothérapique utilisables sont :

- L'auto-sécrétion : le prélèvement correspond au lait mammitique de la vache qui recevra l'isothérapique (Maillot, 2013).
- L'allo-sécrétion: Le prélèvement correspond au lait mammitique d'une autre vache (Maillot, 2013).

### 9.4. Drainage

Le drainage permet d'éliminer les toxines du corps de la vache et d'assurer une régulation de ses organes. Plusieurs plantes homéopathiques ont des vertus drainantes. Parmi elles : *Nux vomica*, *Berberis*, *Solidago* et *Chelidonium* (Labre, 2009).

### 9.5. La phytothérapie des mammites subcliniques

Il existe deux catégories d'utilisation des plantes médicinales :

- les formes totales : broyées et sèches, utilisées pour pratiquer des infusions, des décoctions et des macérations, elles-mêmes destinées à être incorporées à la ration ou à l'eau de boisson du troupeau laitier (Duhamel et Vaussard, 2013).
- les formes extractives : sont rassemblées en deux catégories : les extraits et les macérâts. Les extraits sont utilisés en per os ou en application cutanée. Les macérâts sont appliqués sur la vache par voie externe (Duhamel et Vaussard, 2013).

### 9.6. L'aromathérapie

C'est la thérapeutique par les huiles essentielles extraites des végétaux, qui possèdent

une activité antibactérienne. Parmi les plus connues : les huiles essentielles de thym à feuille de sarriette (*Thymus satureoides* Coss.), de sarriette (*Satureja montana* L.), de girofle (*Syzygium aromaticum* L.) et de tea tree (*Melaleuca alternifolia* Cheel), mais les huiles essentielles de cannelle (*Cinnamomum verum* J. Presl), de lavande vraie (*Lavandula angustifolia* L.) et d'eucalyptus radié (*Eucalyptus radiata* Sieber ex DC.) sont également très efficaces (Grosmond, 2012).

### **9.7. Les apports en oligoéléments, minéraux et vitamines**

Les oligoéléments, les minéraux et les vitamines participent en effet activement à la stimulation des défenses immunitaires de la vache, apportant ainsi une aide précieuse dans le traitement des mammites subcliniques (Issautier, 2013).

*Partie*  
*expérimentale*

*Matériels et  
méthodes*

---

## Matériels et méthodes

### 1. Objectif

Ce travail a eu pour objectif l'isolement et l'identification de quelques germes responsables de mammites subcliniques.

### 2. La zone d'étude

Notre étude a été réalisée au niveau de la région de Tiaret, située à 300 km au sud-ouest d'Alger et appartenant à la zone des hauts plateaux. Son relief varie avec des altitudes comprises entre 800 et 1200 m. Le climat semi-aride est rigoureux, avec une saison hivernale courte et froide et une saison chaude longue et sèche.

### 3. Matériels et méthodes

#### 3.1. Matériels

##### 3.1.1. Echantillons de laits

Notre étude a porté sur des échantillons de laits provenant de six vaches en lactation présentant une mammite subclinique. Le prélèvement a été effectué au mois d'Avril 2018.

#### 3.2. Méthodes

##### 3.2.1. Sélection des vaches

Afin de sélectionner les vaches à partir desquelles le lait sera prélevé, on leur fait subir les examens suivants :

##### a. Examen cliniques

Consistant en l'inspection de la mamelle dans le but d'apprécier la taille l'équilibre et le volume de la mamelle et des trayons.

##### b. Examen para-clinique

Consistant à réaliser le test du CMT (California Mastitis Test) pour détecter une éventuelle mammite. Le CMT constitue un test peu onéreux et facile à réaliser en élevage. Connu depuis 1957, son principe est basé sur l'action d'un détergent tensioactif (solution de Teepol à 10 %) dans le lait. Après élimination des premiers jets de lait à partir des trayons, une petite quantité de lait (environ 2 ml) est recueillie dans une coupelle. On ajoute au lait prélevé une quantité égale du tensioactif et par un mouvement rotatoire, on mélange les deux liquides dans les coupelles. Au bout de quelques secondes, il se forme un précipité

dont l'importance et la consistance sont fonction de la teneur en cellules somatiques du lait prélevé. Ce test peut permettre, quand il est effectué régulièrement, de préciser le statut infectieux d'un animal et de déterminer le ou les quartiers infectés (Durel et al. 2004).



**Figure 6.** Etapes de réalisation du test CMT (Source : auteurs).

### 3.2.2. Prélèvement

Les prélèvements de lait ont été effectués à partir des quartiers présentant un CMT positif. La technique de prélèvements se fait comme suit :

- Lavage des mains avec une solution désinfectante.
- Lavage et séchage des trayons.
- Désinfection de l'extrémité du trayon avec un tampon de coton imbibé d'alcool à 70°.
- Le prélèvement, doit se faire d'un geste précis et rapide; on ouvre le tube stérile en tenant le bouchon dans la même main. Après élimination des premiers jets, on prélève quelques millilitres de lait puis on referme le tube.
- Tous les échantillons sont numérotés, placés sous froid dans une glacière et sont acheminés au laboratoire de microbiologie où ils sont aussitôt congelés à -20°C en attendant leur analyse.



### 3.2.3. Analyse microbiologique

#### 3.2.3.1. Préparation des dilutions décimales des laits

Les échantillons de lait congelés, ramenés à température ambiante par dépôt des tubes sur la paillasse, sont homogénéisés au vortex. Nous avons préparé des dilutions allant de  $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-4}$  à partir de la solution mère.

#### 3.2.3.2. Ensemencement sur les différents milieux de culture

A partir des différentes dilutions, un volume de 100  $\mu$ l de chaque dilution a été étalé sur différents milieux de culture solides en boîtes de Pétri à l'aide d'un étaloir de façon uniforme par un mouvement de balayage et de rotation sur l'ensemble de la surface. Les boîtes ont été incubées 24 à 72 h heures à 37°C.

Les milieux de culture utilisés sont :

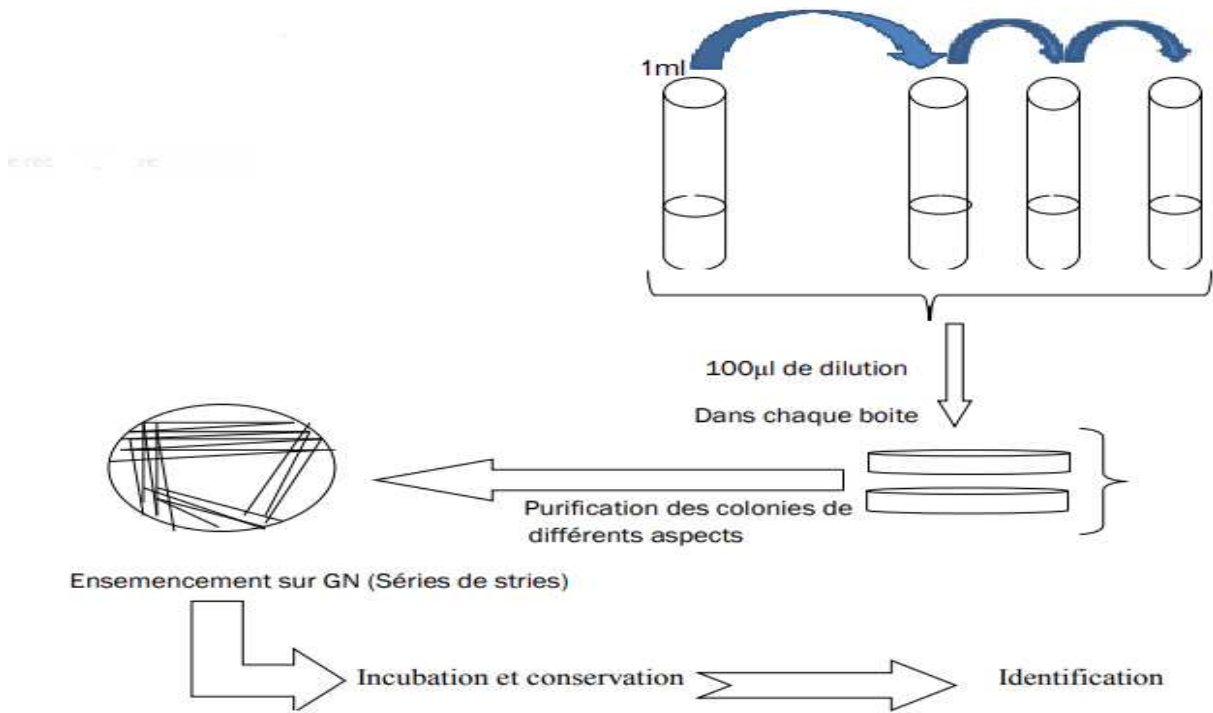
- La gélose nutritive : c'est un milieu ordinaire permettant la croissance de presque tous les microorganismes non exigeants (ISO, 2009)
- La gélose Chapman: La gélose de Chapman au mannitol permet l'isolement sélectif, la recherche et le dénombrement des staphylocoques pathogènes dans le lait, les produits carnés, les produits de la mer, les autres produits alimentaires, les produits pharmaceutiques, les produits cosmétiques et les prélèvements biologiques d'origine animale (Chapman, 1948; ISO/TS, 2004)
- Le milieu de MacConkey : c'est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des Entérobactéries tel qu'*Escherichia coli*, Salmonella, Shigella ainsi que les coliformes dans les eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques d'origine animale (MacConkey 1905; XP CEN ISO/TS, 2011).
- Le milieu King A : utilisée pour la caractérisation des Pseudomonas par la mise en évidence de la production de pyocyanine (King et al. 1957; USP, 2008).
- Le milieu Sabouraud : utilisée pour l'isolement des levures et des moisissures surtout lorsque les prélèvements sont fortement contaminés par des bactéries (XP Cen ISO/TS, 2004).

#### 3.2.3.3. Isolement des microorganismes

Après incubation on sélectionne les boîtes présentant des colonies microbiennes. La sélection est basée sur l'aspect macroscopique des colonies: la couleur, la forme, le diamètre, l'aspect, l'opacité...

Les colonies obtenues sont prélevées et ensuite purifiées par repiquages successifs sur les différents milieux par la méthode de stries jusqu'à obtention de cultures pures.

La pureté est confirmée au microscope. Si une culture mixte est identifiée, il faut tenter à nouveau l'isolement de chaque germe présent.



**Figure 7.** Etapes de l'isolement et purification des microorganismes à partir du lait.

### 3.2.3.4. Identification des isolats

L'identification des isolats est basée sur leurs caractéristiques morphologiques, physiologiques (examen macroscopique et microscopique) et biochimiques.

#### a. Examen macroscopique

L'observation macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification (Guezlane et al. 2010).

#### b. Examen microscopique

Permet d'observer à l'aide d'un microscope optique ( $G \times 100$ ) : la forme, la taille et l'arrangement des cellules microbiennes ainsi que le mode de regroupement des bactéries. Il consiste en l'observation d'une goutte de suspension bactérienne, préparée dans de l'eau distillée et placée sur une lame, séchée et fixée à la flamme et colorée soit par une coloration simple ou par une coloration de Gram afin de déterminer le type de paroi (Guezlane et al. 2010).

### c. Caractérisation biochimique des isolats

#### ➤ Catalase

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène selon la formule suivante :  $\text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{catalase}} \text{H}_2\text{O} + 1/2 \text{O}_2$  (bulles d'air)

La présence de la catalase est mise en évidence en dissociant à l'aide de l'effilure d'une pipette Pasteur une quantité suffisante de la culture sur une lame de verre contenant une goutte d'eau oxygénée. La présence d'une catalase se traduit, en quelques secondes, par la formation de bulles (Fig.8) (Aouati, 2009; Chaala, 2013).

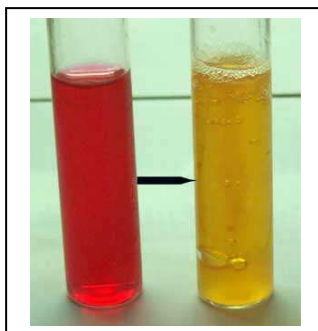


**Figure 8.** Test de la catalase.

#### ➤ Croissance sur le milieu mannitol-mobilité

Le milieu se présente sous forme de gélose molle en culot contenant du mannitol, du rouge de phénol et des nitrates. L'ensemencement du milieu se fait par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une anse de platine (Fig.9) L'incubation se fait à 37°C durant 24 heures.

- Si le milieu prend une coloration jaune : la bactérie est mannitol +.
- Si le milieu reste rouge : la bactérie est mannitol -.
- Si les bactéries sont mobiles, elles se disperseront à partir de la piqûre d'ensemencement créant un trouble dans le milieu, sinon la bactérie est immobile) (Lennette et al. 1985).

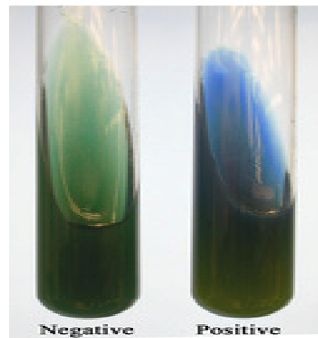


**Figure 9.** Test Mannitol-Mobilité.

**➤ Utilisation du citrate sur le milieu au citrate de Simmons**

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone: le citrate. Seules les bactéries possédant une citrate-perméase sont capables de se développer sur ce milieu. Ce test permet de déceler la présence du cycle de Krebs. La pente du milieu estensemencée par une strie longitudinale au moyen d'une anse contenant une colonie et incubé à 37°C pendant 5 jours (Fig.10).

- Citrate-positive: alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).
- Citrate-négative: pas de culture (coloration du milieu inchangée) (Marchal et al. 1991).

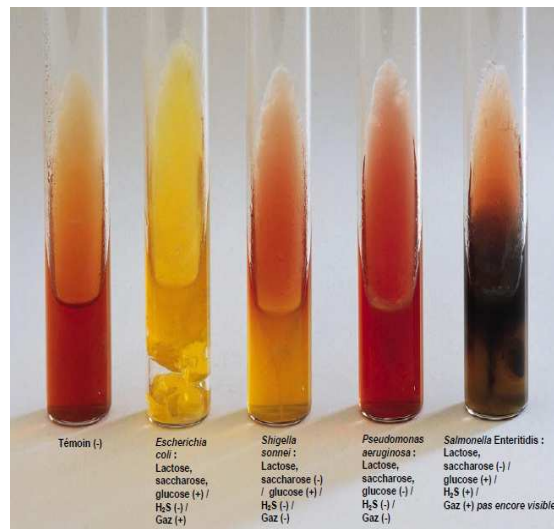


**Figure 10.** Test Citrate de Simmons.

**➤ Test TSI (Triple Sugar Iron)**

Ce test permet de déterminer la capacité de la bactérie à utiliser plus d'un sucre (glucose, lactose et/ou sucrose) avec ou sans production de gaz et de produire du sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S). A l'aide d'une anse contenant des colonies prélevées, inoculer le culot en piquant avec un fil droit au centre puis inoculer la pente en effectuant une strie sinueuse. L'incubation se fait à 37°C pendant 48 à 72 h. La lecture des résultats se fait comme suit (Fig. 11) (Ewing, 1985):

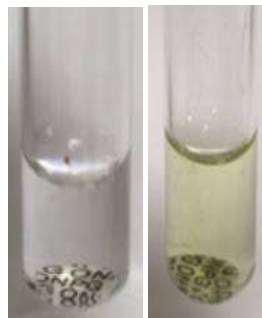
- Fermentation du glucose seulement: culot jaune et pente rouge.
- Fermentation du glucose et un des deux autres sucres (lactose et/ ou sucrose): culot et pente jaune.
- Aucun sucre dégradé: pente rouge et culot rouge ou orange.
- Production de gaz: bulle(s) de gaz, milieu complètement séparé ou soulevé.
- Production de H<sub>2</sub>S: précipité noirâtre plus ou moins abondant.



**Figure 11.** Test TSI.

➤ **Production de la B-galactosidase (Disques ONPG)**

Le test est pratiqué en réalisant une suspension dense de la bactérie testée dans de l'eau distillée puis à l'aide d'une pince flambée et refroidie nous avons ajouté un disque imprégné d'ONPG et nous avons mis le tube dans l'étuve pendant 24 h. La présence d'une bêta-galactosidase se traduit par la libération de l'ortho phényle soluble de couleur jaune qui apparaît après la durée d'incubation (Fig. 12) (Delarras, 2007).



**Figure 12.** Test ONPG.

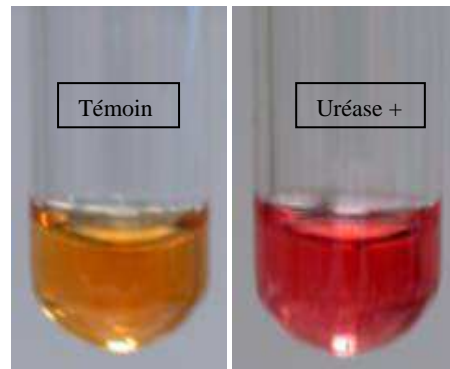
➤ **Le test Urée –Tryptophane**

- **Recherche de l'uréase**

L'uréase est une enzyme qui dégrade l'urée selon la réaction suivante :



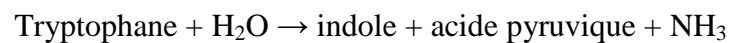
Les ions  $\text{CO}_3^{-2}$  vont entraîner une forte alcalinisation du milieu qui sera révélée par un virage de l'indicateur de pH (le rouge de phénol) à sa teinte basique (rouge).



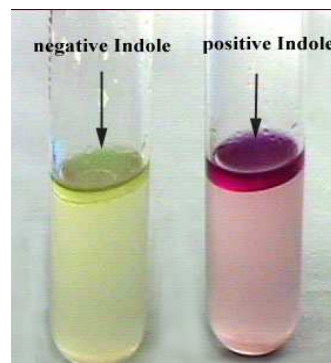
**Figure 13.** Test Urée-Tryptophane.

- **Recherche de la production d'indole (mise en évidence de la tryptophanase)**

La tryptophanase hydrolyse le tryptophane selon la réaction suivante :



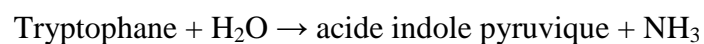
L'indole forme un complexe coloré en rouge en présence d'un réactif : le réactif de Kovacs.



**Figure 14.** Test de la Tryptophanase.

• **Recherche du tryptophane désaminase**

La TDA dégrade le tryptophane selon la réaction suivante :



L'acide indole pyruvique forme un précipité marron foncé en présence d'un réactif : le chlorure de fer en solution acide (Marchal et al. 1991).



**Figure 15.** Test de la Tryptophane Désaminase (TDA).

#### - Recherche des décarboxylases LDC, ODC et ADH

Les enzymes arginine déshydrolyase (ADH), lysine décarboxylase (LDC) et ornithine décarboxylase (ODC) catalysent respectivement la décarboxylation de l'arginine, de la lysine et de l'ornithine présent dans le milieu. Cette dégradation aboutit à la formation de produits basiques. L'alcalinisation du milieu est révélée par un virage de l'indicateur de pH (le pourpre de bromocrésol) à sa teinte basique (violette). On opère en milieu anaérobie et contenant une faible concentration de glucose. L'acidification (due à l'utilisation du glucose) et l'anaérobiose sont des conditions favorables à la synthèse des décarboxylases.

- Dans un premier temps, la bactérie dégrade le glucose entraînant ainsi une acidification
- Dans un second temps, si elle possède l'enzyme correspondante, elle utilise l'un des acides aminés ; l'arginine, la lysine ou l'ornithine, entraînant une alcalinisation du milieu (Richard, 1968).



**Figure 16.** Recherche des décarboxylases ADH, ODC et LDC.

# *Résultats*



## Résultats

### I. Observation macroscopique et microscopique des cultures obtenues après isolement et purification

Après 24 h d'incubation des premières boîtesensemencées avec les six échantillons de laits mammites, différentes colonies microbiennes se sont développées uniquement sur les géloses nutritive, Chapman et MacConkey, par contre, aucune croissance n'a été observée dans les milieux King A et Sabouraud. Par conséquent, l'isolement et la purification des souches s'est faite à partir de ces milieux à l'issue desquels 38 cultures pures ont été obtenues et observées au microscope (tableau 1, 2 et 3).


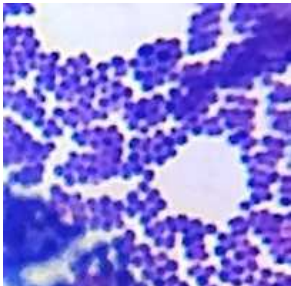
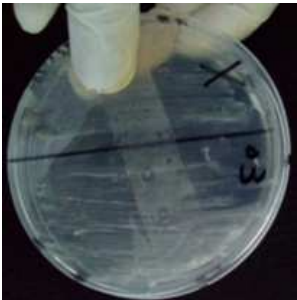
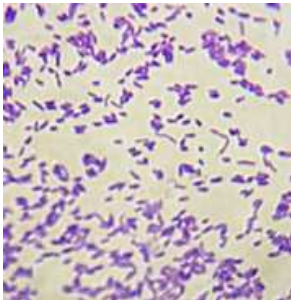
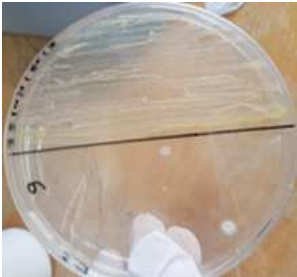
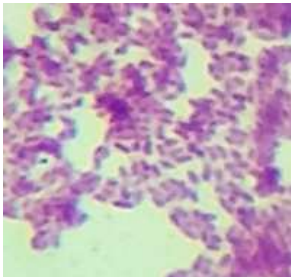
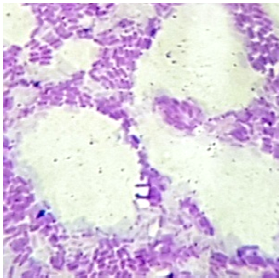
**Tableau 1.** Pourcentages des isolats obtenus de chaque échantillon de lait testé.


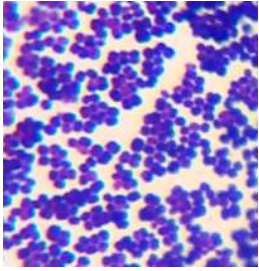
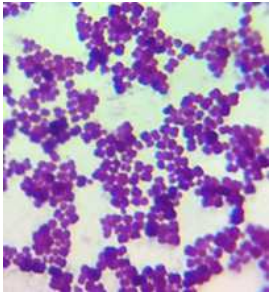
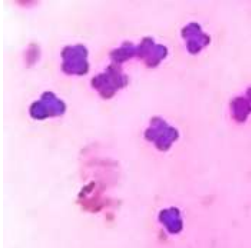

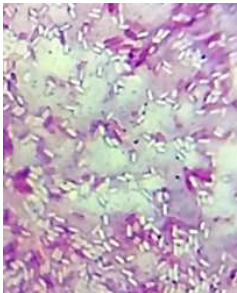
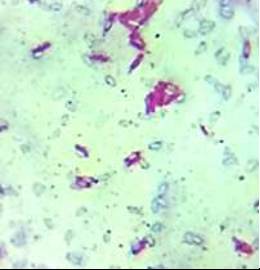
Echantillons de laits	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Isolats (%)	21,05	10,52	18,42	10,52	34,21	5,26

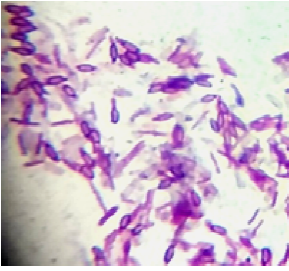

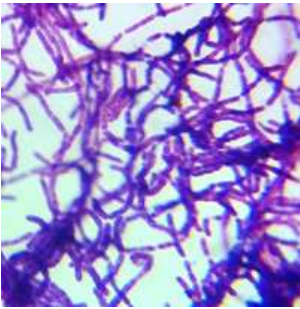

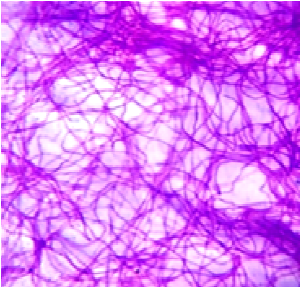
**Tableau 2.** Isolats obtenus après purification et observation au microscope à partir des Échantillons de laits mammites.


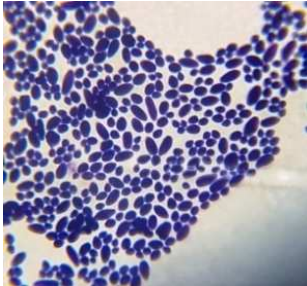
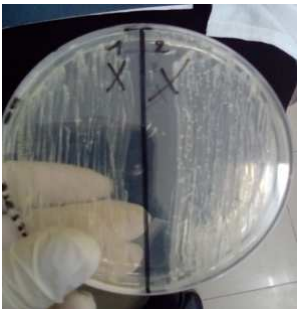
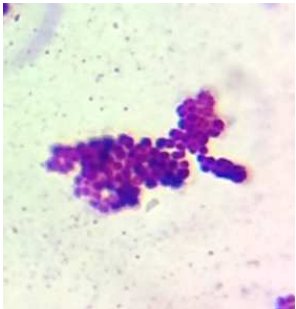

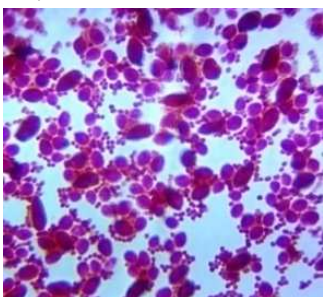
Echantillons de laits		E1	E2	E3	E4	E5	E6	Total
Souches								
Petits Cocci Gram + en amas		3	0	1	2	2	1	<b>9</b>
Gros Cocci Gram + en amas		1	0	1	0	0	0	<b>2</b>
Cocci Gram + en tétrades		1	1	1	0	0	0	<b>3</b>
Bacilles Gram +	<b>Sous forme de spores</b>	0	2	3	2	4	0	<b>11</b>
	<b>Non-sporulés</b>	0	1	1	0	3	0	<b>5</b>
Bacilles Gram + en chainettes		2	0	0	0	0	0	<b>2</b>
Bacilles Gram + (actinobactéries)		0	0	0	0	1	0	<b>1</b>
Levures		1	0	0	0	2	0	<b>3</b>
Non identifiées		0	0	0	0	1	1	<b>2</b>
Total		<b>8</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>13</b>	<b>2</b>	<b>38</b>

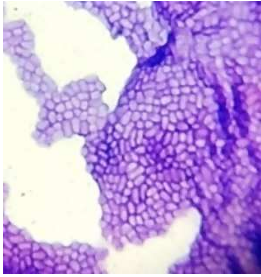
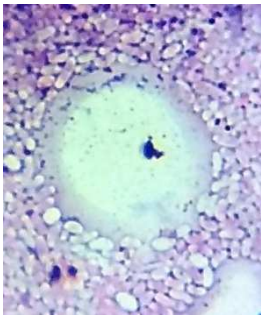
**Tableau 3.** Aspect macroscopique et microscopique (grossissement x 100) des isolats obtenus des échantillons de laits mammitieux.

Echantillon (E) - Souche	Aspect microscopique	Genre soupçonné	Isolats identiques
<p>E5.4</p>  <p>Sur gélose Chapman</p>	<p>E5.4</p>  <p>Cocci Gram +, en amas.</p>	<p><i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>E1.2/ E1.3/ E3.3/ E4.2a/ E4.3/ E1.8 /E5.5/ E6.2</p>
<p>E5.x</p>  <p>Sur gélose nutritive</p>	<p>E5.x</p>  <p>Bacilles Gram +, isolés.</p>	<p>Bacillus spp.</p>	<p>E2.9</p>
<p>E5.9</p>  <p>Sur gélose nutritive</p>	<p>E5.9</p>  <p>Bacilles Gram +, isolés.</p>	<p>Bacillus spp.</p>	<p>E5.2</p>
	<p>E3.11</p>  <p>Bacilles Gram +, isolés.</p>	<p>Bacillus spp.</p>	

<p>E1.5</p>  <p>Sur gélose nutritive</p>	<p>E1.5</p>  <p>Coque Gram +, en amas</p> <p>E1.6</p>  <p>Coque Gram +, en Tétrade.</p> <p>E3.15</p>  <p>Coque Gram +, en tétrade.</p>	<p>Staphylococcus spp.</p> <p>Coque Gram+</p> <p>Coque Gram+</p>	<p>E3.9</p> <p>E2.2</p>
<p>E4.7 E4.6</p>  <p>Sur gélose nutritive</p>	<p>E4.6</p>  <p>E2.4</p> 	<p>Spores de Bacillus spp.</p>	<p>E5.11/ E2.6/ E4.7/ E5.12/</p>

	<p>E5.6</p> 	<p>Spores de <i>Bacillus</i> spp.</p>	<p>E3.13/ E3.14/ E3.2</p>
<p>E1.9</p>  <p>Sur gélose nutritive</p>	<p>E1.9</p>  <p>Bacilles Gram+, en chainettes</p>	<p><i>Bacillus anthracis</i></p>	<p>E1.4</p>
<p>E5.7</p>  <p>Sur gélose nutritive.</p>	<p>E4.2b</p>  <p>Cellules filamenteuses.</p>	<p>Actinobactérie</p>	<p>E5.7</p>

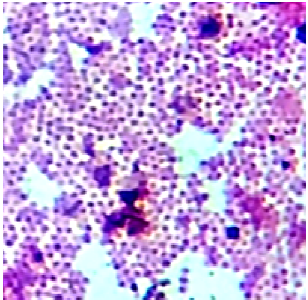
<p>E5.3</p>  <p>Sur gélose nutritive</p>	<p>E5.3</p>  <p>Cellules ovoïdales, isolées.</p>	Levure	
<p>E5.1</p>  <p>Sur gélose nutritive</p>	<p>E5.1</p>  <p>Cellules sphériques, en amas.</p>	Levure	
<p>E1.1</p>  <p>Sur gélose nutritive</p>	<p>E1.1</p>  <p>Cellules ovoïdales, isolées.</p>	Levure	

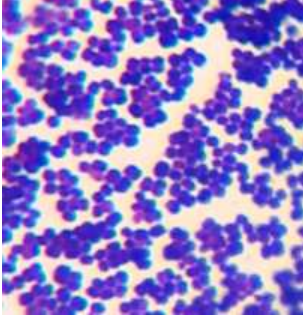
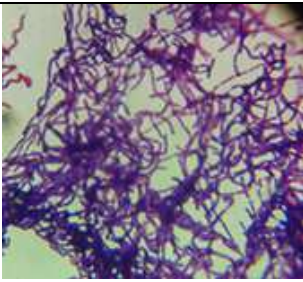
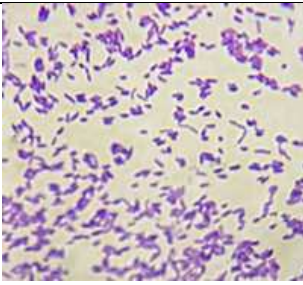
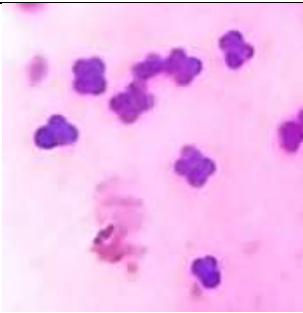
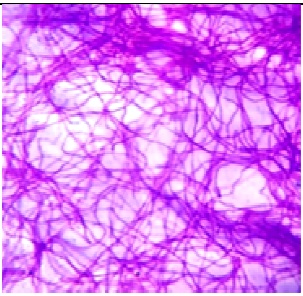
	<p>E5-5m</p>  <p>E6.1</p> 	Non identifiés.	
--	--	-----------------	--

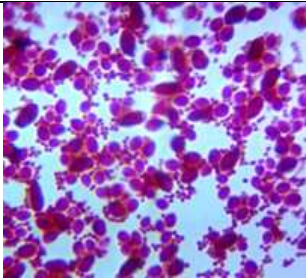

## II. Identification biochimiques des isolats

Après observation macroscopique et microscopique (et pour des raisons pratiques) les isolats présentant les mêmes caractéristiques ont été considérés comme étant les mêmes et donc un seul d'entre eux est sélectionné pour réaliser les différents tests biochimiques. Ainsi dix (10) souches ont été sélectionnées. Les résultats des tests biochimiques sur les 10 souches sélectionnées sont présentés dans le tableau 4.

**Tableau 4.** Identification biochimique des isolats sélectionnés.

Les souches	Aspect microscopique	Tests biochimiques
<i>Staphylococcus aureus</i>		Cat+, ONPG+, Man+, Imob, uréase+, TDA-, TRP-, Gaz-, H <sub>2</sub> S, Glu+, Lac+, Sac+, ADH +, ODC-, LDC-,

Staphylococcus spp.		Cat+, ONPG-, Man+, Imob, uréase, TDA-, TRP-, Gaz-, H <sub>2</sub> S-, Glu-, Lac-, Sac+, ADH-, ODC+, LDC+
<i>Bacillus anthracis</i>		Cat+, ONPG+, Man-, Gaz-, H <sub>2</sub> S-, Glu+, Lac-, Sac+, ADH+, ODC-, LDC+, uréase-, TDA-, TRP+
Bacillus spp.		Cat+, ONPG+, Glu+, Man+, Imob, Gaz-, H <sub>2</sub> S-, Lac+, Uréase-, TDA-, TRP-.
Cocci Gram+		Cat+, Glu+, ONPG+, Uréase+, Sac+, ADH+, LDC+, ODC+
Actinobactérie		Cat+, Man+

Levure		Cat+, Glu+, ONPG+, Gaz-, H <sub>2</sub> S-, Lac+, Sac-
Non identifié		Cat+, Man+, Glu+,

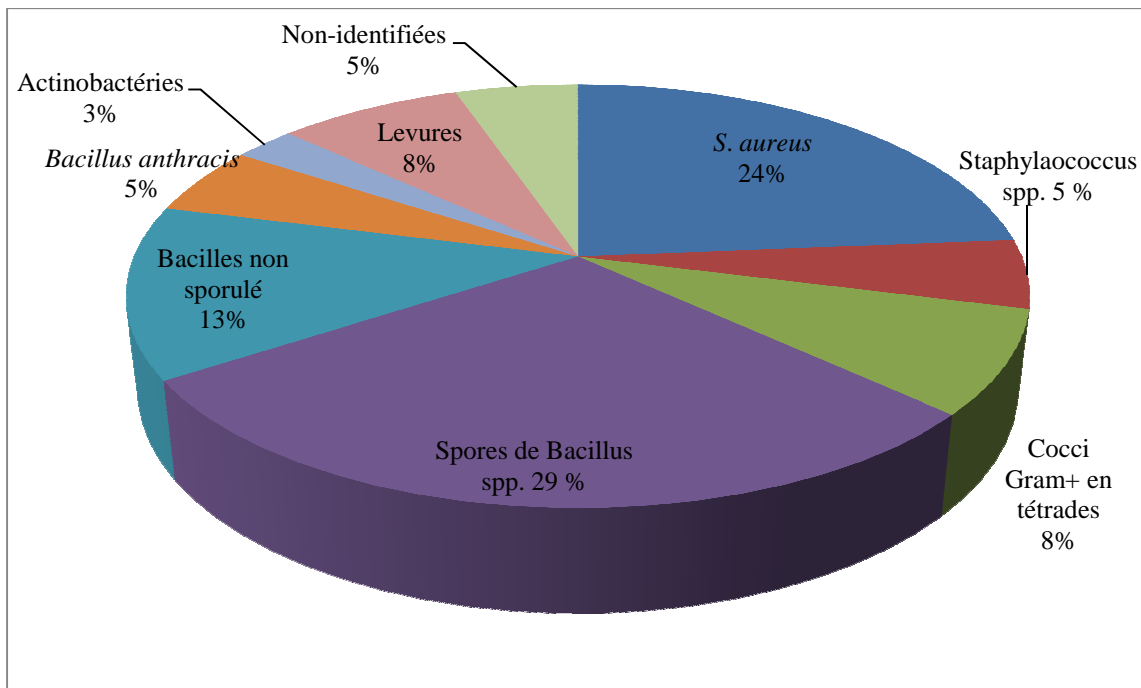
Cat : Catalase, Glu : Glucose, Sac : Saccarose, ADH : Arginine dihydrolase,  
LDC : Lysine décarboxylase, ODC : Ornithine décarboxylase, TRP : Tryptophanase,  
TDA : Tryptophane désaminase, ONPG : OrthoNitroPhényl-bêta-D-Galactopyranoside,  
Man : Mannitol, Imob : Immobile.

Les tests biochimiques nous ont permis d'identifier quelques isolats ce qui nous a mené à déterminer les microorganismes dominant (Fig. 17) supposés responsables des mammites. Ainsi nous avons noté que les germes les plus dominants sont *S. aureus* et les bactéries appartenant au genre *Bacillus* (tableau 5).

**Tableau 5.** Isolats identifiés à partir des échantillons de laits mammiteux.

Echantillons de laits		E1	E2	E3	E4	E5	E6	Total
<b>Souches</b>								
<i>Staphylococcus aureus</i>		3	0	1	2	2	1	<b>9</b>
Staphylocoques spp.		1	0	1	0	0	0	<b>2</b>
Coques Gram + en tétrades		1	1	1	0	0	0	<b>3</b>
Bacillus spp.	Sous forme de spores	0	2	3	2	4	0	<b>11</b>
	Bacilles	0	1	1	0	3	0	<b>5</b>
<i>Bacillus anthracis</i>		2	0	0	0	0	0	<b>2</b>
Actinobactéries		0	0	0	0	1	0	<b>1</b>
Levures		1	0	0	0	2	0	<b>3</b>
Non identifiées		0	0	0	0	1	1	<b>2</b>
<b>Total</b>		<b>8</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>13</b>	<b>2</b>	<b>38</b>





**Figure 17.** Fréquences des isolats dans l'ensemble des laits mammaires testés.

# *Discussion*

---

## Discussion

Rappelons que les mammites subcliniques sont des infections intramammaires asymptomatiques; la vache apparaît en bonne santé, le pis et le lait apparaissent normaux, mais, ces deux derniers présentent un réservoir d'agents pathogènes qui y persistent en absence de traitement.

Cette étude a eu pour objectif l'isolement et l'identification des germes en cause dans les mammites subcliniques à partir de six échantillons de lait prélevés sur un cheptel bovin dans la zone d'exploitation agricole de Sougueur (région de Tiaret).

Les résultats ont démontré la dominance des bacilles à Gram positif appartenant pour la plupart au genre *Bacillus* (42 %) et la prédominance de *S. aureus* (23.7 %)

La mise en cause de *S. aureus* dans les mammites comme étant l'agent le plus dominant a été démontrée dans plusieurs travaux (Heleili et al. 2012). De plus, il a été rapporté que les germes les plus incriminés dans les mammites subcliniques chroniques sont les staphylocoques à un taux de 30 % (Lafi et al. 1994). D'autres études ont démontré sa prévalence dans les mammites subcliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie (Asnoune, 2012). En 2007, Nagahata et al., signalent que *S. aureus* est détecté avec une fréquence de 41,2 % chez 54 vaches en lactation au Japon. *Staphylocoque aureus* est un germe contagieux à réservoirs mammaires. Le transfert s'effectue principalement durant la traite; une vache staphylocoque contamine le trayon des six à huit vaches suivantes (Blowey et Edmondson, 2010). *S. aureus* se fixe dans le parenchyme mammaire et forme un biofilm, les adhésines qu'il possède lui permettent une meilleure adhésion aux épithéliums, se protégeant ainsi des cellules immunitaires (Eicher et al. 2002).

L'étude de Saidi et al. (2016), quant à elle, a noté que les Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN) : *Staphylococcus chromogenes* occupent la première place comme agent responsable de mammite subclinique, suivi par *S. epidermis*. Ils sont maintenant reconnus comme étant les agents responsables majeurs des infections intramammaires bovines. Le nombre élevé de ces germes serait dû aux mauvaises conditions d'hygiène de la traite. Ce type de pathogènes constitue un agent altérant de la nature du lait.

En outre, les bacilles à Gram positif sont des microorganismes très largement présents dans la nature, notamment dans les sols, l'eau, sur les végétaux et dans les fèces (Magnusson et al. 2007). Dans la présente étude, des bacilles avec spores et d'autres sans

spores ont été isolés, ces résultats sont en accord avec ceux de. La présence des *Bacillus* sp peut être un signe d'une mauvaise hygiène lors des manipulations ou d'un contact direct avec le sol. Notons que l'hygiène de la traite n'était pas rigoureuse, le nettoyage des trayons a été fait par des mains nues et avec des lavettes non stériles et de l'eau uniquement et sans être suivi d'essuyage, l'élimination des premiers jets avant la traite se faisait généralement sur le sol sous la vache, présentant ainsi un facteur de risque de contamination de la surface de couchage de la vache, le non control de l'hygiène de la machine à traite, de mauvaises conditions hygiéniques : individuelles, des bâtiments, des étables et d'autres carences ont tous constitué des facteurs de risques des mammites subcliniques. Ces observations de la présente étude sont en accord avec celles de plusieurs autres auteurs (Ben Hassen et al. 2003; Delfosse et al. 2006; Hanzen, 2008).

Pour des raisons pratiques les six échantillons ont été congelés. Selon Schukken et al. (1989), certains germes supportent mal la congélation, comme *Escherichia coli* et les Staphylocoques à coagulase négative (SCN), étant aussi incriminés dans l'induction des mammites, tandis que d'autres la supportent bien, comme les streptocoques et *S. aureus*. Ceci peut expliquer l'absence d'*E. coli*. En outre, selon Guerin et Guerin-Fauble (2007), la persistance des mammites est faible pour les entérobactéries, plus importante pour les streptocoques et souvent très importante pour *S. aureus* (résistance à la phagocytose et à la lyse par les macrophages) et pour les SCN (présence d'une capsule).

Selon Devriese et al. (1999) et McDonald (1976), les bactéries *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*, d'origine fécale, sont aussi responsables des mammites subcliniques et cliniques. Une enquête moléculaire démontrait récemment que les entérocoques présents dans l'alimentation ne sont jamais retrouvés dans les quartiers atteints de mammite, en revanche, ce sont ceux originaires de la litière qui sont à l'origine des infections intramammaires (Petersson-Wolfe et al. 2008). Leur présence est liée au manque d'hygiène de la traite. En effet, la contamination des quartiers se fait aussi bien pendant la traite que dans les étables où le germe peut persister trois semaines (Hanzen, 2008).

La présence de *Bacillus anthracis* a déjà été prouvée par les travaux de Vaissaire et al. (2011) et Bada-Alamedji et al. (2005), qui ont isolé cette bactérie du lait de quatre quartiers de la vaches. La contamination d'une seule vache par cette bactérie hautement pathogène peut être expliquée par : une vache qui a reçu une vaccination à base de spores vivantes couramment en usage peuvent excréter des bacilles vivants (atténués) dans leur

lait, ou lors d'un passage du germe au lait par l'irrigation sanguine du pis (Baaziz et Benghodbane 2009). Les mammites dues au charbon sont rares.

Les actinobactéries ont également été isolées lors de cette étude. Les actinobactéries sont des bactéries telluriques, ce qui explique la contamination du pis par ce genre (Djabri et al. 2002), mais elles sont considérées comme des pathogènes mineurs, ce type de bactérie est également présent dans la présente pathologie (Bada-Alam bedji et al. 2005).

Un autre isolat obtenu lors de cette étude est les levures. Celles-ci sont naturellement présentes dans la terre, sur les plantes, dans l'eau. L'humidité favorise leur développement. On en retrouve dans des zones de moisissures de la litière ou de l'ensilage, ainsi que dans l'eau de puits, citerne, ou abreuvoir (Bidaud et al. 2007). Les mammites à levures apparaissent lorsque les vaches se couchent dans le couloir en cas de stabulation de logette, ou lors de la traite si les trayons ne sont pas essuyés avant l'application des gobelets-trayeurs (Remy, 2010; Blowey et Edmondson, 2010).

Enfin, quelques isolats n'ont pas pu être identifiés due à l'indisponibilité des moyens et des tests convenables.

*Conclusion et  
perspectives*

### Conclusion

Les lésions de la glande mammaire constituent l'une des principales contraintes sanitaires observées dans les troupeaux bovins laitiers.

Les mammites subcliniques, étant des infections asymptomatiques, présentent un réel risque sur la santé de la vache et sur la qualité du lait produit d'une part, et d'autre part sur la santé des consommateurs. Cette pathologie bovine a un impact économique non négligeable lié à une diminution de la production laitière.

Les résultats de l'analyse microbiologique de quelques échantillons de laits mammitiques prélevés dans la région de Tiaret à révélé la prédominance de *S. aureus* (23.7 %) et de bactéries appartenant au genre *Bacillus* (42 %). Cependant, d'autres agents pathogènes mineurs ont été également isolés tels que *B. anthracis*, d'autres bactéries du genre *Staphylocoque*, des cocci à Gram positif, des levures et des actinobactéries.

Ce diagnostic étiologique était utile à la détermination du modèle de transmission dominant, à savoir modèle de traite ou modèle environnemental.

Ainsi, la détection des mammites et leur prévention doivent être une préoccupation majeure pour les professionnels de la filière laitière. La prévention débute par la bonne maîtrise visée aux éleveurs et des médecins vétérinaires : outils, formations, informations, cela aide à lutter sur tous les fronts, et parvenir sinon d'éradiquer la vache totalement afin d'éviter une épidémie touchant tout le cheptel.

Pour, éviter tout impact indésirable, on suggère quelques moyens préventifs tels : la propreté litière (habitats et environnement), les systèmes de drainage et d'évacuation des fèces et des déchets des vaches, couvrir le sol par du sable et de la paille mieux que le béton, fournir un apport alimentaire adéquat et bénéfique pour la santé de la vache, une sélection génétique des races immuno-résistantes, une bonne formation et sensibilisation des éleveurs que cette pathologie bovine est grave, la surveillance régulière des médecins vétérinaires et la demande d'un control microbiologique régulier, tous ces points servent à protéger la vache, de minimiser les pertes économiques et de prévenir les consommateurs contre les intoxications alimentaires dues à l'ingestion du lait mammitique.

*Références*

*bibliographiques*



## Références bibliographiques

- Aouati H. 2009. Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicillines: étude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Mémoire de Magister. Université Mentouri, Canstantine, Algérie.
- Asnoue BZ. Butel MJ. et Ouzrout R. 2012. Prévalence des principales Bactéries Responsables de mammites subcliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. 65(1-2): 5-9.
- Atroshi F. Parantainen J. Sankari S. Järvinen M. Lindberg La. Changes in inflammation-related blood constituents of mastitic cows. *Veterinary Research, BioMed Central*, 1996, 27 (2), pp.125-132.<hal-0090240
- Baaziz S. et Benghodbane H. 2009. Les maladies transmises par le lait. Mémoire. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie.
- Bada-Alamedji R., Kane Y., Issa Ibrahim A., Vias FG. et A.J. AKAKPO2005. Bactéries associées aux mammites subcliniques dans les élevages bovins laitiers urbains et périurbains de Niamey (Niger). *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*. 3(2) : 119-122.
- Baillargeon P. 2010. Connaître la cause de la mammite pour perdre moins de lait. *Le producteur de lait québécois*. 41-44.
- Bosquet G. Faroult B. Labbé J-F. Le page P.sérieys F.2013. Référentiel Vétérinaire 2013 pour le traitement des mammites bovines. SNGTV, Paris, France. 100 p.
- Bardiau M. Detilleux J. Farnir F. Mainil J.2014. Associations between properties linked with persistence in a collection of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis. *Vet. Microbiol*, 169, 74-79.
- Barkema HW. Shukken YH. Lam TJGM. Beiboer ML. Wilmink H. Benedicus G. and Brand A. 1997. Incidence of clinical mastitis in dairy herds in three bulk milk somatic cell count cohorts. *Epidémiologie et Santé Animale*. 31-32.
- Barone R. 1990. Anatomie comparé des mammifères domestiques – Tome 4 : Splanchnologie II. Ed. Vigot, Paris.
- Belschner AP. Hallberg JW. Nickerson SC. and Owens WE. 1996. *Staphylococcus aureus* mastitis therapy revisited. National Mastitis Council, annual meeting, Madison (USA), 116-222.

- Ben Hassen S. Messadi L. ET Ben Hassen A. 2003. Identification et caractérisation des espèces de staphylococcus isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite. *Ann. Médecine vétérinaire*. 147: 41-47.
- Bensouieh M. 2013. Etude de prévalence des mammites et leurs impacts sur la production laitiers dans la région de Tiaret, mémoire de master spécialité production.
- Bidaud O. Houffschmitt P. Viguerien Y. Services techniques Intervet, 4907.
- Beaucouzé.2007. Etiologie des mammites bovines en France entre 2005 et 2007.
- Blowey W. Edmondson P. 2010. Mastitis Control in Dairy Herds p.20
- Bouaziz O. 2005. Contribution à l'étude des infections intra-mammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien. Thèse doctorat, Université Mentouri, faculté des sciences Constantine, Algérie.
- Bradley A.J. 2002. Bovine mastitis: an evolving disease. *The Veterinary Journal*, 2002, 164 (2): 116-128.
- Bravard M. Schmitt-van de Leemput E. 2006. Infection à staphylocoques coagulase négatifs. *Le Point Vétérinaire*, 37(266) : 76-79.
- Chaala. W. 2013. Occurrence et profil d'antibiorésistance des Staphylococcus aureus isolée de produits alimentaires. Université d'Es-senia Oran, Algérie.
- Chapman. G.H. 1948. An improved Stone medium for the isolation and testing of food poisoning staphylococci. *Food Research*, 13: 100-105.
- Coulon JB. Lescourret F. 1997. Effet des mammites cliniques sur la production chez la vache laitière. *Rencontres Rech. Ruminants*, 4 : 265-268.
- De Crémoux R. 2012. Réponse de la mamelle aux infections: des défenses actives. Institut de l'Elevage.
- Delarras C. 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Ed. Lavoisier, Cedex, pp 230, 261-262, 317, 320, 393.
- Delfosse C. Froidmont E. Curnel Y. Humbelt M.F. 2006. Etude ecopathologique des facteurs de risques des mammites dans les élevages laitier en Wallonie. Paris.
- Descoteaux L. 2004. La mammite clinique stratégies d'intervention. Facultés de médecines vétérinaires, Université de Montréal-Québec. Conférence
- Devriese L. 1999. Identification Of Aesculin-Hydrolyzing Streptococci, Lactococci, Aerococci and Enterococci From Subclinical Intramammary Infections In Dairy Cows. *Vet Microbiol*. 70(1-2): 87-94.
- Djabri B. Bareille N. Beaudeau F. Seegers H. 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis, *vet. Res*. 33: 335-357.

- Dufreneix F. 2015. Caractérisation des cellules épithéliales mammaires chez la vache laitière. Sciences du Vivant. Thèse de Doctorat. Université de Rennes, France.
- Durel L. Faroult B. Lepoutre D. Brouillet P. Lepage P. 2004. Mammites des bovins (cliniques et subcliniques). Démarches diagnostiques et thérapeutiques. La Dépêche Technique. Supplément technique 87 à la Dépêche Vétérinaire du 20 Décembre 2003 au 2 Janvier 2004.
- Duhamel J. et Vaussard G. 2013. Stratégies de réduction des antibiotiques vétérinaires en élevage bovin. Canappeville
- Eckles CH. 1913. Dairy cattle and milk production. MacMillan, New York. 342 p.
- Erskin R. 2004. Phylosophical appraoch to antibiotic therapy; know the cow, the bug and the drug Proceedings of the annual meeting of the national mastitis council.
- Erskine RJ. Eberhart RJ. Scholz RW. 1987. Experimental *E. coli* mastitis in selenium deficient and selenium adequate dairy cows. Journal of dairy science. 71 (suppl 1): 150.
- Ewing WH. 1985. Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae. 4th ed Elsevier Science Publishing Co. Inc. New York.
- Faroult B. Arzul P. 2005. Tarrisement des vaches laitières : approche sanitaire et zootechnique. La Dépêche vétérinaire (supplément technique n°95): 1-35.
- Fogsgaard KK. et al. (2012). Sickness behavior in dairy cows during Escherichia coli mastitis. Journal of Dairy Science, 95(2), pp. 630-638
- Gieseke WH. 1985. The effect of stress on udder health of dairy cows. Onderstepoort Journal of veterinary research, 52: 175-193.
- Guerin P. Et Guerin-Fauble V. 2007. Les mammites de la vache laitière. P.140
- Guezlane-Tebibel N. Kahlouche B et Athmani-Guemouri S. 2010. Microbiologie : travaux pratiques, 2<sup>ème</sup> édition. Ed. Offices des publications universitaires, Alger.
- Grosmond G. 2010. Santé animale et solutions alternatives. Editions France Agricole.
- Hanzen Ch. 2008. Pathologie Infectieuse De La Glande Mammaire. « En Ligne ». Accès Internet : [Http://Ulg.Ac.Be/Oga/Formation/Chap30/Index.Htm?Page=30-0.Htm](http://Ulg.Ac.Be/Oga/Formation/Chap30/Index.Htm?Page=30-0.Htm).
- Hanzen. CH. 2010. Propédeutique de la glande mammaire sémiologie et diagnostique individuel et de troupeau, approche individuelle.
- Heeschen Z. Reichmuth J. 1995. Mastitis: The disease under aspects of milk quality and hygiene. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte. 46(3): 221-237.
- Hogan J. Gonzales R. Harmon S. Nickerson J. Smith K .1999. Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. National Mastitis Council Inc., Madison.

- Hutton CT. Fox LK. Hancock DD. 1991. Risk factors associated with herd-group milk somatic cell count prevalence of coagulase positive staphylococci intramammary infections. *Preventive Veterinary Medicine*. 11(1): 25-35.
- ISO/TS 11133-2. 2009. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture.
- Issa Ibrahim A. 2015. Bilan bactériologique des mammites dans les troupeaux Zébu Azawak à la station expérimentale sahélienne de Toukounous (Niger) et épidémiologie moléculaire des *Staphylococcus aureus* isolés entre 2009 et 2012. Thèse de Doctorat. Université de Liège, Belgique.
- Issautier MN. Homéopathie pour tous les ruminants. 2ème édition. Editions France Agricole, 2013.
- Jammes H. Djiane J. 1988. Le développement de la glande mammaire et son contrôle hormonal dans l'espèce bovine. *INRA Productions animales*. 1(5): 299-310.
- Kadja MC. Kane Y. Kpodékon M. Nakoure J. Kaboret Y. 2010. Profil lésionnel des mamelles de vaches en élevage laitier dans la zone périurbaine de Dakar. *Annales des Sciences Agronomiques du Bénin*. 13(2): 71-83.
- Kalandi M. Sow A. Millogo V. Faye S. Ouédraogo AG. Biosci GJ. 2017. Prévalence et facteurs de risque des mammites subcliniques dans les élevages traditionnels de Kaolack au Sénégal.
- Keller P. 1977. The influence of the environment on the health of cows in cubicle stalls. *Proceedings of seminar on Agricultural Buildings, As, Norvège, Section II*.
- King EO. Ward M. Raney D. 1957. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* 44:301-307.
- Klastrup OG. Bakken J. Bramleyet R. Buchnell. 1987. Environmental influences on bovine mastitis. *Bulletin of the international dairy federation*.
- Lennette EH. Ballows A. Hausler Jr. Shadomy HJ. 1985. *Manual of Clinical Microbiology*. 4th ed. Washington D.C.: American society for Microbiology. <http://www.quelab.com/htmleng/1858a.html>
- Lescouret F. Coulon JB. Faye B. 1995. Predictive model of mastitis occurrence in the dairy cow. *J. DairySci.*, 78; 2167-2177.
- Lévesque P. 2006. La classification des mammites. *Le Producteur de Lait Québécois*. 30-33.

- Le Page P., Bosquet G., Théron L., Labbé JF., Frédérici-Mathieu C. et Tisserand S. Traitement et prévention des mammites bovines : actualités. Supplément technique, *Dépêche Vétérinaire*. 2014, 136, 39 p.
- Labre P. 2009. Médecines naturelles en élevage : Homéopathie vétérinaire chez les bovins, ovins et caprins. Tome 1. Editions Femenvet.
- M'sadak Y. Hamed I. 2017. Conformation des mamelles, propreté des vaches et état des trayons chez deux grands élevages (Tunisie littorale semi-aride). *Revue des BioRessources*. (1): 16-28.
- MacConkey. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. *J. Hyg.* 8: 333-379.
- Magnusson M. 2007. *Bacillus Cereus* In Free-Stall Bedding. *J Dairy Sci*; 90(12):5473-82
- Marchal N. Bourdon JL. Richard CL. 1991. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3<sup>ème</sup> Ed., Doin éditeurs, Paris.
- McDonald TJ, McDonald JS. 1976. Streptococci isolated from bovine intramammary infections. *Am J Vet Res*. 37(4):377-381.
- Morse D. De Lorenzo MA. Wilux CJ. Natzke RP. Bray DR. 1987. Occurrence and reoccurrence of clinical mastitis. *J Dairy. Sci.*, 70: 2168.
- Maillot B. 2013. L'homéopathie en élevage bovin. Th D Pharm, Lille 2 santé.
- Schmitt-Van De Leemput E, Gaudout N, Samson O, Lhuillier D et Lhermie G. 2013. Comparaison de deux méthodes d'identification bactérienne en clientèle. *Le Point Vétérinaire*.
- Oliver SP. Sordillo IM. 1988. Udder health in the preparturient period. *J. Dairy Sci*. 71 2584-2606
- Pauline L. 2015. Enquête sur le diagnostic et le traitement des mammites de la vache laitière par les vétérinaires de terrain en France. Thèse de doctorat Ecole nationale vétérinaire d'Alfort France.
- Petersson-Wolfe C. 2008. Genomic Typing Of Enterococci Isolated From Bovine Mammary Glands And Environmental Sources. *J. Dairy Sci*. 91(2):615-619.
- Petranxiene D. Lapied L 2002. Qualité bactériologique du lait et des produits laitiers (Analyses et tests), Ed. Technique et Documentation Lavoisier; Paris, 328 p.
- Pluvinage PH. Ducruet TH. Josse J. Monicat F. 1991. Facteurs de risque des mammites des vaches laitières. Résultats d'enquête. *Recherche Médecine vétérinaire*. 167(2) : 105-112.

- Poutrel B. 1985. Généralités sur les mammites de la vache laitière : processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle. Recherche Médecine Vétérinaire., 161 (6- 7) : 497-511.
- Poutrel B. 2014. Prévention Vaccinale Des Mammites A Coliformes Et Staphylocoques. Supplément Technique, Dépêche Vétérinaire. 136, 31-32.
- Pyorala S. Taponen S. 2009. Coagulase-negative staphylococci, emerging mastitis pathogens. Veterinary Microbiology.
- Rainard P. Ducelliez M. Poutrel B. 1990. The contribution of mammary infections by coagulase-negative staphylococci to the herd bulk milk somatic cell count. Veterinary Research Communications. 14(3): 193-198.
- Remy D. 2010. Les mammites. Guides France Agricole. p 23 24
- Reschke C. 2017. Traiter les mammites correctement. Revue UFA. 6 : 62-64.
- Richard C. 1968. Techniques rapides de recherche des lysines décarboxylase, ornithine décarboxylase et arginine-dihydrolase, dans les genres *Pseudomonas*, *Alcaligenes* et *Moraxella*. Ann. Ins. Pasteur 114: 425-430.
- Risco C. Melendez P. 2011. Dairy Production Medicine. Chichester, United Kingdom.
- Roussel P. 2008. Instituts d'élevage-Oniris-INRA, UMR BIOEPAR, BP 40706,44307 Nantes Cedex 03.Approche pratique : comment définir une stratégie de traitement des vaches laitières au tarissement.
- Saini V. McClure J. Leger D. Dufour A. Sheldon G. Scholl D. Barkema H. 2012. Antimicrobial use on Canadian dairy farms. Dairy Sci.
- Salat O. Lhermie G. Bastien J. 2007. Démarches pratique de traitement des infections mammaires à Staphylocoque aureus. Journées Nationales des G.T.V., Nantes. 23 au 25 mai 2007.
- Schukken YH. Grommers FJ. Smit JA. Van de Geer D. Brand A. 1989. Effect of freezing on bacteriologic culturing of mastitis milk samples. J. Dairy Sci., 72: 1900-1906.
- Seegers H. Serieys F .2002. L'intervention du vétérinaire face à un problème de mammites : questions de base et réponses possibles aujourd'hui. In Tours.
- Seegers H. Menard JL. Fourichon C. 1997. Mammites en élevage bovin laitier : importance actuelle, épidémiologie et plans de prévention. Rencontres Rech. Ruminants, 4, 233-242.
- Serieys F. 1985. La numération des cellules du lait : interprétation pour le diagnostic et le suivi des infections mammaires. Recherche. Médecine. Vétérinaire., 161 (6-7) : 553-566.

- Shyaka A. 2007. Diagnostic des mammites cliniques et subcliniques en élevage bovin laitier intensif (cas de la ferme de Wayembam). Thèse de Doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- Simon D. 2011. Facteurs de risque modifiables associés à l'incidence, l'élimination et la prévalence D'infections intra-mammaires chez la vache laitière en lactation. Thèse de doctorat. Université de Montréal.
- Slettbakk T. Jorstad A. Farver TB. Holmes JC .1995. Impact of milking and morphology of udder and teats on clinical mastitis in first and second lactation Norwegian cattle. *Preventive Veterinary Medicine*: 235-244.
- Timms I. Schultz H. 1987. Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. *Journal of Dairy Science*.
- USP. 2008. 31th ed. Microbial Limit Tests. US Pharmacopeial Convention Inc. Rockville MD.
- Vaamonde RJ. Adkinson RW. 1989. Somatic cell count score associated with clinical mastitis, number of antibiotic treatments and duration of clinical episode in single and multiple trait selected lines of Holstein cattle *Journal of dairy Science*. 27 (No 8), 2009, 486-493.
- Vaissaire M. Mock C. Le Doujet et M. L2vy. 2001. Le charbon bactérien. *Epidémiologie de la maladie en France. Méd. Mal. Infect.* 31 : 257-271.
- Wattiaux MA. 2015. Sécrétion du lait. Institut Babcock pour la Recherche et le Développement International du Secteur Laitier. Université de Wisconsin, Madison.
- XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.
- XP CEN ISO/TS 11133-2/A1 (V 08-104-2/A1). Février 2011. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture. Amendement 1 : micro-organismes pour essai recommandés pour les milieux de culture les plus usuels.