

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université SAAD DAHLEB" BLIDA
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques
Département des Sciences Vétérinaires

PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
"DOCTEUR VETERINAIRE"

Thème

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES
MAMMITES MYCOSIQUES

Présenté par :

M^r ALILECHE AHMED

M^r CHAIB NACER

Jury :

Nom :

Université

Qualité :

M^r SAIDANLK

U.S.D.B

President

M^r ZIAM.H

U.S.D.B

Examinateur

M^{me} MEKHADEMLK

U.S.D.B

Promotrice

Promotion 2013

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Dieu tout le puissant de nous avoir aidé et de nous avoir donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.

Nous tenons à remercier de tout nos cœur madame **MEKADEMI KARIMA**, notre promotrice qui nous a fait l'honneur d'encadrer notre travail, et pour l'encouragement qu'elle nous a donné ainsi que sa disponibilité, son soutien, ses conseils et son accompagnement sans relâche durant notre travail.

Nous remercions chaleureusement aussi :

Monsieur SAIDANI KHELAF

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

Monsieur ZIAM HOCINE

D'avoir accepté examiner notre examinateur.

Sincères remerciements.

Un grand merci est adressé à tout nos enseignants, on tient à leurs exprimer notre reconnaissance pour tout ce qu'ils nous ont donné comme savoir et savoir faire.

A toute personne qui m'a aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

DEDICACES

A mes parents

Qui m'ont offert une enfance très heureuse,

Qui m'ont apporté soutien et amour chaque jour,

Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma reconnaissance et mon amour,

A mes sœurs et frères

Pour leur soutien, leur aide et leur sourire, avec tout mon amour : Zahia, Naima, Nadia, Fatima, Arzika et la petite Fatiha

Aldjia et son mari Yacine, je vous souhaite une longue et heureuse vie.

A mon frère Farid et sa petite famille : Salim et Hamza

A mon frère Abderrahmane et sa petite famille: Lyes, Ferhat et Liza

Merci de former une famille unie, aimante, qui m'a toujours soutenu et encouragé.

A ma future femme ARZIK.A et sa famille

Quand nos chemins se sont croisés, tu as donné un sens à ma vie, tu m'as montré ce que c'était d'être heureux. Merci pour tous ces moments de joie, Qui me font me sentir encore vivant ;

A mes oncles et mes tantes et surtout à jida Fatima ;

A toutes les familles : ALILECHE, BEN YAHIA ET HAMOUCHE,

A la mémoire d'un cher frère et ami Mouh Said, déjà une année passé. Que Dieu le miséricordieux t'accueille en son Vaste Paradis ;

A docteur HADDADI KARIM « T.N.T » et sa famille, merci pour tout ;

A tous mes amis et a toutes les personnes que j'ai connus au long de mon parcours universitaire, et au lycée de TIZI N'TLETA ravi d'avoir passé des bons moments en votre compagnie ;

A toute personne qui m'a aidé durant tout mon parcours d'étude ;

A tout les gents de mon village AIT EL HADJ ALI « CHEURFA »

A mon binôme Nacer

ALILECHE AHMED



DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents aux quels je dois tous.

A mes très chers grand parents que dieu les garde.

A mes très chers frères : Aziz et le petit Mohamed.

A mes très chers sœurs :Ghania,Karima et son mari Kamel

Et leurs deux enfants Yanis, Mélina.

A mes tantes Malika, Ourida et mon oncle Yahia.

A la mémoire de jida ouardia décidée cette année ;

Que dieu la miséricordieux l'accueille en son vaste paradis.

A toute personne qui m'a aidé durant tout mon parcours universitaire ;

A toutes les personnes que j'ai connues à la fac,

Ravie d'avoir passé des bons moments en votre compagnie.

A mon cher binôme Ahmed et toute sa famille.

A tous mes amis et surtout :(Mouloud,Ghiles,Moh,

Khaled,Karim,Dabi,Soraya....) et tous ceux qui me sont chers.

NACER

RESUME :

L'infection mycosique de la glande mammaire n'a pas reçu une grande attention de la part des vétérinaires algériens. Le but de notre projet est l'étude des différents agents causals des mammites fongiques, ainsi que les facteurs de risques extrinsèques (facteurs climatiques, alimentaires, pathologiques et thérapeutiques), intrinsèques (la race, l'âge et la production laitière) et la relation existant entre eux ainsi que l'incidence de ces mammites et enfin les mesures de lutte et de la prophylaxie contre ces derniers.

Puis on a présenté les différentes techniques de prélèvements (prélèvements du lait et les écouvillonnages...etc.). Ainsi que les étapes d'analyses mycologiques (mise en culture, identification, et la détermination du genre et d'espèce).

MOTS CLES : Mammite – Champignons – Incidence – Facteurs de risque –Prélèvements– .Analyses.

ABSTRACT:

Mammary mycosis infection has not been received much more attention by the Algerian veterinarians. The aim of our project, was to study of different fungus caused the fungal mastitis, the risk factors and to study the relationship between these both factors and the fungal mastitis incidence, finally, a fight and prophylaxis against this infection.

After that, we were introduced a technic of sample (milk sample,...) and a method of mycology tests (identification, and to qualify fungal species)

KEYS WORDS: Mastitis - Fungi - Incidence - Risk Factors- analyses- sample.

ملخص :

توجد عدة أمراض تصيب البقر في بلادنا ومنها مرض لم يحضى من قبل البيطرة بأدنى الإهتمام ألا و هو مرض الإلتهاب الفطري للذرع بحيث أنها قليلة جدا الدراسات التي أجريت لإحصاء هذا الداء و هدف بحثنا هو دراسة مختلف الفطريات التي تسبب هذا المرض و كذلك عوامل الخطر الداخلية (العمر, السلالة, إنتاج الحليب) و الخارجية (عوامل مناخية و غذائية...) و العلاقة الموجودة بينه و بين نسبة الإصابة بهذا المرض و في الأخير المقاييس و طريقة تجنب و القضاء علي هذا المرض (الإلتهاب الفطري للذرع).

ثم قدمنا قدمنا مختلف تقنيات أخذ العينات (عينات الحليب...), و كذلك مختلف التحاليل الفطرية (عزل و تصنيف و تحديد أنواع الفطريات)

الكلمات المفتاح: التهاب الضرع - الفطريات - نسبة الإصابة - عوامل الخطر - أخذ العينات - التحاليل .

LISTE DES FIGURES :

Figure 1: Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus*.

Figure 2 : *Aspergillus flavus* : culture de 7 jours sur gélose au malt à 25°C et aspect microscopique.

Figure 3 : *Aspergillus fumigates* : Culture de 7 jours sur gélose au malt à 25°C et aspect microscopique.

Figure 4: *Aspergillus Ochraceus* (aspect microscopique).

Figure 5 : *Aspergillus oryzae* : culture de 7 jours sur gélose au malt à 25°C.

Figure 6 : Caractères du thalle de genre *Penicillium*.

Figure 7 : Caractères morphologiques des *Penicillium*.

Figure 8 : Appareil reproducteur des Mucorales.

Figure 9 : Technique de prélèvement de lait.

Figure 10 : Barème de notation de l'état de propreté des bovins.

Figure 11 : protocole d'analyse mycologique du lait.

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau I : Symptômes locaux et généraux des mammites.

Tableau II : Caractéristiques des différents types de mammites.

Tableau III : Espèces isolées à partir des mains des trayeurs avant et après la traite.

Tableau IV : la formule de notation de l'état de propreté des bovins.

Tableau V : Etat de l'orifice du trayon (Teat end condition score card).

Remerciements

Dédicaces

Résumé en français

Résumé en anglais

Résumé en arabe

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Définition.....	1
2. Les différents types de mammites et caractéristiques pathologiques.....	1
2.1. Mammite latente.....	1
2.2. Mammite sub-clinique.....	1
2.3. Mammite clinique.....	2
I. ETIOLOGIE DES MAMMITES FONGIQUES.....	4
I.1. GENERALITES.....	4
I.2. LES AGENTS FONGIQUES EN CAUSE.....	4
I.2.1. Le genre <i>Aspergillus</i>	4
Les principales espèces du genre <i>Aspergillus</i>	5
<i>Aspergillus flavus</i>	5
<i>Aspergillus fumigatus</i>	6
<i>Aspergillus Ochraceus</i>	7
<i>Aspergillus oryzae</i>	8
I.2.2. Le genre <i>Prototheca</i>	9
I.2.3. Le Genre <i>Penicillium</i>	9
I.2.4. Le genre <i>Candida</i>	11
I.2.5. Le genre <i>Rhodotorula</i>	12
I.2.6. Le genre <i>Cryptococcus</i>	12
I.2.7. Le genre <i>Mucor</i>	12
I.2.8. Le genre <i>Mortierell</i>	13
I.2.9. Le genre <i>Geotrichum</i>	13
I.2.10. Le genre <i>Rhizopus</i>	13
I.2.11. Le genre <i>Absidia</i>	14

II. EPIDEMIOLOGIE DES MAMMITES FONGIQUES.....	15
II.1. EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE.....	15
II.1.1. Population affectée.....	15
II.1.2. Répartition géographique et fréquence.....	15
II.1.3. Aspect épidémiologique.....	15
II.1.3.1. La forme sporadique.....	15
II.1.3.2. La forme épizootique.....	15
II.2. EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE.....	15
II.2.1. Sources et matières virulentes.....	15
II.2.1.1. Sources primaires.....	15
II.2.1.1.1. Litière, habitat et les matières fécales.....	16
II.2.1.1.2. L'alimentation.....	16
II.2.1.1.3. Le matériel de traite.....	16
II.2.1.1.4. Les mains des trayeurs.....	17
II.2.1.1.5. Produits de traitement intra-mammaire.....	17
II.2.2. Réceptivité.....	18
II.2.2.1. Les facteurs intrinsèques.....	18
II.2.2.1.1. La race.....	18
II.2.2.1.2. L'âge.....	18
II.2.2.1.3. La production laitière.....	19
II.2.2.2. Les facteurs extrinsèques.....	19
II.2.2.2.1. Les facteurs climatiques.....	19
II.2.2.2.2. Les facteurs alimentaires.....	19
II.2.2.2.3. Les facteurs pathologiques.....	19
II.2.2.2.4. Les facteurs thérapeutiques.....	19
❖ Les antibiotiques.....	19
❖ Les corticoïdes	19
II.2.3. MODES DE CONTAMINATION	19
III- EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE.....	20
III. PATHOGENIE DES MAMMITES FONGIQUES.....	21
III.1. PENETRATION DES MICRO-ORGANISMES.....	21

III.2. ADAPTATION AU NOUVEL ENVIRONNEMENT ET	
GERMINATION.....	21
III.2.1. Les facteurs liés à l'animal.....	21
III.2.2. Les facteurs liés à l'agent mycosique.....	22
III.3. ELABORATION DES SUBSTANCES TOXIQUES.....	22
III.4. DISSEMINATION DE L'AGENT INFECTIEUX.....	22
VI : DIAGNOSTIC DES MAMMITES FONGIQUES.....	24
VI.1. DIAGNOSTIC EPIDEMIO-CLINIQUE.....	24
VI.1.1. Les circonstances d'apparition.....	24
VI.1.2. Les éléments de suspicion.....	24
VI.2. DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL.....	25
VI.2.1. Diagnostic mycologique.....	25
VI.2.2.1. Échantillonnage.....	25
VI.2.2.2. Examen direct.....	25
VI.2.2. Diagnostic biochimique.....	26
VI.2.3. Diagnostic sérologique.....	26
VI.2.3.1. Techniques.....	27
VI.2.4. Diagnostic moléculaire.....	27
V. TRAITEMENT DES MAMMITES FONGIQUES.....	28
V.1. TRAITEMENT NON SPECIFIQUE.....	28
V.1.1. Le traitement sanitaire.....	28
V.1.2. Le traitement médical.....	28
V.1.2.1. Les antiseptiques et antibiotiques.....	28
V.1.2.2. Les traitements adjuvants.....	28
V.2. LES TRAITEMENTS SPECIFIQUES (AGENTS ANTIFONGIQUES).....	29
V.3. LA TOXICIT.....	29
V.4. LA RESISTANCE.....	30
IV. PROPHYLAXIE DES MAMMITES FONGIQUES.....	31
IV.1. PROPHYLAXIE MEDICALE.....	31
IV.2. PROPHYLAXIE SANITAIRE.....	31
IV.2.1. L'indice de propreté des animaux.....	31
IV.2.2. Hygiène et technique de traite.....	31

IV.2.3. L'Alimentation.....	32
IV.2.4. La sélection génétique.....	32
 PARTIE EXÉRIMENTALE	
I. TECHNIQUES DE PRELEVEMENTS.....	33
I.1. Techniques des prélèvements pour l'analyse mycologique.....	33
I.1.1. Prélèvements de lait.....	33
I.1.2. Prélèvements d'aliments.....	34
I.1.3. Les écouvillonnages.....	34
I.1.3.1. Ecouvillonnage vaginal.....	34
I.1.3.2. Ecouvillonnage des manchons trayeurs.....	35
I.1.3.3. Ecouvillonnage des mains des trayeurs.....	35
I.1.4. Méthodes d'évaluation de l'indice de propreté de l'étable.....	35
I.1.5. Méthode d'évaluation de l'état de l'orifice du trayon (Teat end score).....	36
II. ANALYSES MYCOLOGIQUES.....	38
II.1. Examens direct.....	38
II.1.1. Mise en culture.....	38
II.1.1.1. Isolement.....	38
II.1.1.2. Repiquag.....	38
II.1.2. Identification.....	39
II.1.2.1. Caractères macroscopiques.....	39
II.1.2.2. Caractères microscopiques.....	39
II.1.2.3. Caractères biochimiques.....	39
❖ Milieu Sabouraud.....	39
❖ Test de sensibilité à l'Actidione.....	39
❖ Test de Blastese.....	39
❖ Test d'Urée – Indol.....	40
❖ Test du Rice cream.....	40
II.1.3. Détermination du genre et de l'espèce.....	40
III. RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	42
III.1. Effet d'amélioration des conditions d'hygiène sur la prévalence de la mammite fongique.....	42
III.2. L'étude des facteurs de risque.....	43

III.2.1. Les sécrétions vaginales.....	43
III.2.2. L'alimentation.....	43
III.2.3. Les mains des trayeurs.....	44
III.2.4. L'indice de propreté de l'animal.....	44
III.2.5. État de l'orifice du trayon.....	44
VI. Conclusion ET RECOMANATION.....	46
Références bibliographiques	
Annexes	

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

Depuis l'apparition de la traite mécanique en 1862 (Champagne, 2004), les mammites demeurent la pathologie la plus fréquente dans les élevages laitiers (Blanfort *et al.*, 2000).

Les mammites sont les affections les plus communes et les plus coûteuses pour les producteurs de lait ce qui en fait une problématique majeure pour l'industrie laitière, dans la plupart des pays du monde. En effet, sur 100 vaches laitières, on compte 80 à 90 épisodes de mammites annuellement (Hogan et Smith, 2003). En plus de causer une baisse de production laitière, une diminution de qualité du lait, des frais de traitements et des réformes.

La mammite est la pathologie à laquelle sont le plus souvent confrontés les éleveurs et les vétérinaires. Elles demeurent une pathologie dominante dans les élevages bovins laitiers, avec une incidence annuelle oscillant entre 20 et 50% (Pluvinage *et al.*, 1991; Barnouin *et al.*, 1993 ; Kossaibati *et al.*, 1998 ; Bareille *et al.*, 1998 ; Niar *et al.*, 2000).

Les enquêtes révèlent une prévalence similaire d'un pays à l'autre. La prévalence des mammites, tout type d'infection confondu est de 50% pour les vaches laitières touchées et de 25% des quartiers atteints (Blood et Radostits., 2000).

La fréquence des mammites est rapportée par divers auteurs ; 29% pour Seegers *et al.*, (1997) en France, 30% pour Rahmouni-Alami et Mazouz (2003) au Maroc, 31% pour Pitkala *et al.* (2004) en Finlande, 31,7% pour Faye *et al.*, (1994) en France et 36,6% pour Whitaker (2002) en Angleterre. En algérie elle est de 42,2% rapportée par Niar *et al.*, (2000) dans la région de Tiaret. En revanche, elle est supérieure à la fréquence de 23,1% trouvée dans la région de Constantine par Koutchoukali (1980).

La grande majorité des mammites sont dues aux bactéries, mais il a été constaté un accroissement du nombre des rapports concernant l'étiologie fongique. (Spanamberg *et al.*, 2008). En effet, Pengov (2002) a pu isoler 187 espèces de levures et 34 espèces appartenant au genre *Prototheca sp* à partir de lait de vaches présentant les signes de mammites cliniques et subcliniques.

La mammite mycosique, décrite depuis 1901, a aussi existé bien avant la découverte des antibiotiques. Cependant, après la découverte de ces agents thérapeutiques et la

banalisation de l'antibiothérapie, une augmentation de l'incidence de la mammité fongique a été reportée, le plus souvent associée au traitement préventif ou curatif des mammites bactériennes (Pengov, 2002). Le mécanisme responsable de l'augmentation de l'incidence des mammites fongiques semble être très complexe (Perez et *al.*, 1998).

La mammité mycosique peut représenter un danger réel dans les élevages laitiers par les pertes considérables qu'elle peut engendrer (baisse de la production laitière, modifications organoleptiques du lait, augmentation du comptage cellulaire, agalactie, réforme des vaches avec lésions chroniques et parfois même la mort de l'animal). En plus des pertes économiques directes et indirectes, le lait mammitéux représente un risque sanitaire pour la consommation humaine surtout chez les individus immunodépressifs.

En Algérie très peu d'étude ont été menées sur ce thème dans les élevages bovins laitiers, ainsi que les différents facteurs favorisant leur apparition et leur développement.

Pour cela on a contribué une étude bibliographique sur les mammites fongiques et on a opté pour les objectifs suivants :

- Etude des agents causaux des mammites fongiques.
- Influence des facteurs de risques sur l'apparition des mammites fongique.
- Des mesures de lutte et de la prophylaxie contres les mammites mycosiques.

1. définition :

La mammite est une Inflammation de la glande mammaire se traduisant par la présence dans le lait de germes pathogènes et de cellules d'origine sanguine ou mammaire, ainsi que par des modifications physiques, chimiques et biochimiques de lait. (Marcel., 2007)

C'est est une inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle, provoquée généralement par une infection bactérienne ou par des levures (Candida), et des algues microscopiques, ou suite à un traumatisme de la mamelle, ou encore suite à des désordres physiologiques, mais celles-ci sont beaucoup plus rares. L'infection mammaire peut prendre diverses formes suivant qu'elle soit associée ou non à des signes cliniques : on distingue les mammites cliniques associées à des symptômes inflammatoires et des infections subcliniques. (Gedilaghine , 2005).

2. Les différents types de mammites et caractéristiques pathologiques:

Selon les stades d'évolution de la mammite, on distingue :

2.1. Mammite latente:

Caractérisée par la présence de microorganismes dans le lait. Elle ne s'accompagne d'aucun signe clinique, mais elle peut occasionner une faible perte de production de l'ordre de 7 % et une légère augmentation du taux cellulaire dans le lait.

L'expression de cette infection est utilisée pour décrire une situation où un pathogène majeur s'est établi dans un quartier alors que la vache n'a pas encore commencé à réagir à l'infection. L'apparence du lait et le comptage des cellules somatiques (CCS) sont normaux. (Levesque 2006)

2.2. Mammite sub-clinique :

Caractérisée par une baisse de la sécrétion lactée de 10% et par une hyper leucocytose. La vache apparaît en bonne santé, néanmoins certaines modifications telles que mèches et grumeaux qui apparaissent en fin d'évolution.

A ce stade, la vache commence à réagir à l'infection, mais aucun signe clinique n'est perceptible ; le lait et le quartier semblent normaux, donc il est nécessaire de faire un test pour la détecter : le CCS et le test de mammite de Californie (CMT) sont le plus souvent utilisés. (Levesque 2006).

2.3. Mammite clinique:

Caractérisée par des symptômes visibles de l'inflammation ainsi qu'un lait d'aspect anormal (coagulation, présence de sang, décoloration), Des carences de sélénium et de vitamine A et E entraînent une augmentation des nouvelles infections et des cas de mammites cliniques. Le rôle du sélénium est considéré comme important dans le cas des mammites infra cliniques.

Les mammites cliniques se classent selon leur sévérité : (Pierre Levesque 2006)

2.3.1. La plus part des cas cliniques sont légers. Seul signe visible : des grumeaux dans le lait. Ceux si sont des agglomérats de débris de tissus, de leucocytes et de protéines.

2.3.2. Dès que le quartier est enflé on parle d'un cas modéré, il peut aussi être rouge, chaud ; ou plus dure et douloureux.

2.3.3. Il arrive parfois que des toxines soient produites par les bactéries qui infectent le quartier. Ces toxines passent dans le sang et ce n'est plus le quartier qui est malade, c'est toute la vache et on qualifie alors le cas sévère. Les s signe cliniques varient d'un cas a un autre : yeux creux, oreilles tombantes et froides, faiblesse, perte d'appétit... etc.

Le recapulatif des symptomes locaux et généraux sont cités dans le tableau I.

	Normal	Sub-clinique	Clinique		
			1	2	3
			Chronique	Aiguë	Suraiguë
Etat général	-	-	-	-	+
Etat de la glande	-	-	-/+	+	++
Aspect du lait	-	-	+	++	+++
Cellules	-	+	+	++	+++
Germes	-	+	+	++	+++

- Absence de manifestations ou + Présence de manifestations

Tableau I : Symptômes locaux et généraux des mammites (Henzen 2003)

Le tableau II, resume les caractéristiques des différents types de mammites

Type de mammite	Symptômes caractéristiques
Clinique aiguë	Inflammation de la mamelle, fièvre de plus de 39C°, sujet faible et déprimé, manque d'appétit. Rendement laitier baisse drastiquement. Suit souvent le vêlage et, de façon moins grave, le tarissement.
Clinique suraiguë	Quartier enflé, chaud, rouge, douloureux. Le lait passe difficilement. Fièvre de plus de 41C°, la vache n'a pas d'appétit, frissonne et perd du poids rapidement. La lactation est souvent interrompue.
Clinique subaiguë	Aucun changement apparent du pis, présence de caillots dans le lait, surtout dans les premiers jets. Sujet bien portant.
Infra clinique	Aucun symptôme. 15 à 40 cas pour un cas clinique. Le lait est d'apparence normale. Le seul changement est la détection de l'agent pathogène à l'analyse et l'accroissement du compte somatique. Surtout causée par <i>Staphylococcus aureus</i> .
Chronique	Attaques cliniques répétées mais peu fortes, généralement sans fièvre. Lait grumeleux, quartiers enflés parfois. Le quartier peut devenir dur (indurations fibreuses). Les traitements antibiotiques ne fonctionnent souvent pas.
Gangréneuse	Le quartier affecté est bleu et froid au toucher. La décoloration progresse du bas vers le haut. Les parties nécrotiques tombent du corps. La vache en meurt souvent.
Contagieuse	Mammite provoquée par des bactéries comme <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Streptococcus agalactiae</i> , dont les vaches infectées sont la source principale.
Environnementale	Mammite provoquée par des bactéries comme les coliformes (<i>E. coli</i> , etc.), dont la source principale est un environnement contaminé le plus souvent par du fumier.

Tableau II: Caractéristiques des différents types de mammites (Duval 2008)

I. ETIOLOGIE DES MAMMITES FONGIQUES

I.1. GENERALITES :

Les champignons appelés aussi mycètes, sont des organismes pluricellulaires, immobiles et hétérotrophes; à savoir, incapables de synthétiser la matière organique. Ils puisent leurs énergies des matières organiques en décomposition. Cette particularité est liée d'une part à l'absence de chlorophylles chez les champignons et d'autre part au mode de nutrition qui se fait par absorption et détermine le mode de vie de ces champignons qui peut aller du simple saprophytisme au parasitisme (Tabuc, 2007). Ni animal, ni végétal, les champignons font partie du **règne fongique**.

Ces champignons sont appelés couramment « moisissures », véritables agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères capables de coloniser des substrats très divers (végétaux, papier, cuir, murs...). Il s'agit d'organismes hétérotrophes (nécessitant une source de carbone et d'azote pour leur développement) et ubiquistes. (Tabuc, 2007)

Une caractéristique majeure des champignons est leur mode de reproduction ; ils produisent un grand nombre de spores, ce qui leur assure un pouvoir de contamination considérable. Les spores sont issues de plusieurs modalités de reproduction sexuée ou asexuée qui représentent le principal critère de leur classification. (Tabuc, 2007)

I.2. LES AGENTS FONGIQUES EN CAUSE :

I.2.1. Le genre *Aspergillus* (figure 1)

Les *Aspergillus* sont présents dans le sol, l'alimentation et secondairement dans l'air, l'eau et les objets exposés à ces sources. Ces champignons ont une large répartition géographique, mais sont plus souvent associés aux régions à climat chaud (Castegnaro et Pfohl-Leszkwicz, 2002); Ce genre comprend environ 185 espèces réparties en 18 groupes morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches (Raper et Fennell, 1965 ; Botton *et al.*, 1990 ;Roquebert, 1998). Une vingtaine d'espèces est impliquée dans des pathologies animales et humaines. Ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales. De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont présentes dans l'environnement humain, notamment dans la poussière et l'air (Morin, 1994).

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

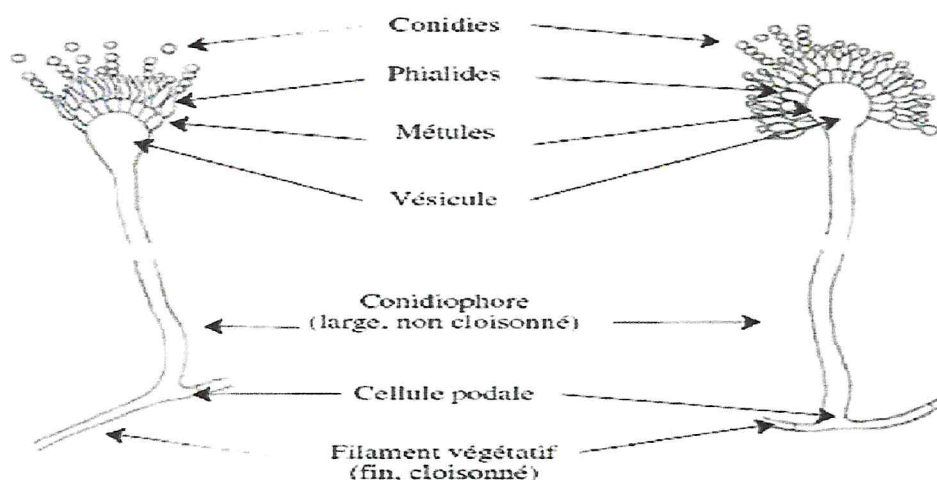


Figure 1: Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus* (Tabuc, 2007)

Pour certaines espèces, des formations sexuées apparaissent parfois en culture. Il s'agit de cléistotèques qui contiennent des asques arrondis renfermant chacun 8 ascospores.

Les « hülle cells » ou les cellules en noisette, sont des formations arrondies, réfringentes à paroi épaisse qui accompagnent souvent les formes sexuées, mais que l'on peut également observer isolément, indépendamment de la reproduction sexuée. (Tabuc., 2007)

Les principales espèces du genre *Aspergillus*

Aspergillus flavus : (figure 2)

Caractères cultureux : Le champignon se développe rapidement sur les milieux classiques (géloses au malt et Sabouraud) à 22-25°C. La température optimale de croissance est 37°C. Sur le milieu de culture *A. flavus* forme des colonies duveteuses à poudreuses, d'abord blanches, puis jaune, puis vert-jaune. Le revers peut être incolore, rosâtre ou brun-rouge foncé pour les souches productrices de sclérotés (Tabuc., 2007)

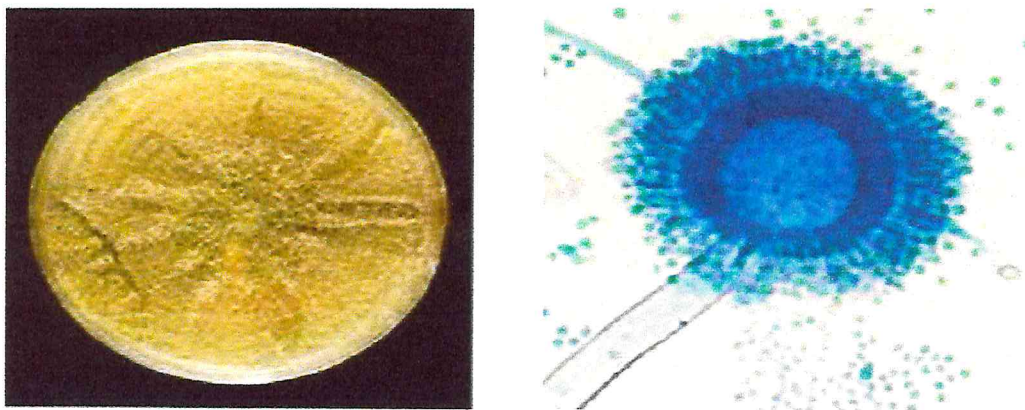


Figure 2. *Aspergillus flavus* : culture de 7 jours sur gélose au malt à 25°C et aspect microscopique. (Tabuc., 2007)

Morphologie microscopique : Les têtes conidiennes, unisériées ou bisériées, d'abord radiées, puis réparties en plusieurs colonnes de spores mal individualisées, jaunâtres au début, puis vert-jaune foncé. Les conidiophores hyalins, verruqueux, atteignent 1 à 2,5 mm de long. Les vésicules sont sub-globuleuses, et mesurent 25 (10-65) à 45 μm de diamètre. Les phialides (6-10 x 4-5,5 μm) sont insérées directement sur la vésicule (unisériées) ou portées par des métules. Les conidies sont globuleuses à sub-globuleuses, de 3-6 μm de diamètre, de couleur verte pâle, verruqueuses. Les sclérotés, fréquents dans les isolats récents, sont globuleux à sub-globuleux, d'abord blanc puis virant au brun-rouge foncé et au noir (Tabuc., 2007)

Aspergillus fumigatus : (figure 3)

Parmi les 900 espèces recensées, *Aspergillus fumigatus* est l'espèce la plus souvent incriminée dans les infections humaines et animales, les mammites dues à cette espèce ont été reportées à des taux élevés, surtout en Europe. (DWIGHT et ZEE., 2002)

Caractères cultureux : mycélium à croissance rapide sur les milieux de culture classiques à 37°C. *A. fumigatus* est une espèce thermotolérante dont la température de croissance est comprise entre 15 et 48°C ; la température optimale étant située aux alentours de 40 et 42°C. Cette espèce peut se développer jusqu'à 57°C (Morin, 1994). *A. fumigatus* forme des colonies d'abord blanches, puis bleu-vertes et enfin vert foncé à gris noirâtre. Le revers peut être incolore, jaune, vert ou brun-rouge suivant les souches. (Tabuc., 2007)

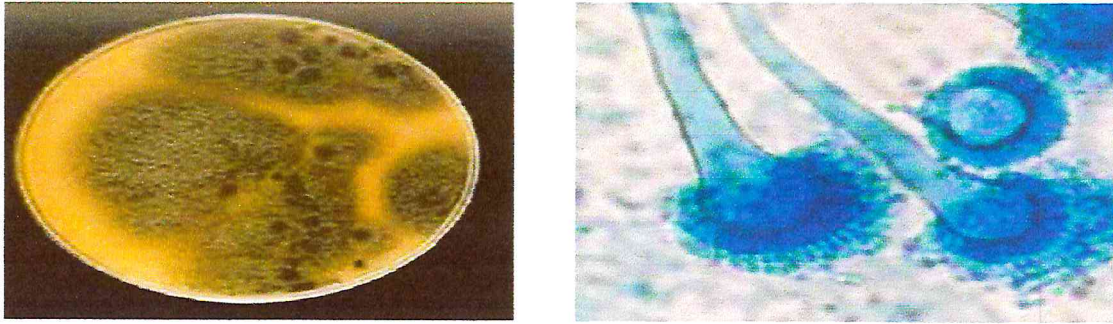


Figure 3. *Aspergillus fumigatus* : Culture de 7 jours sur gélose au malt à 25°C et aspect microscopique. (Tabuc., 2007)

Morphologie microscopique : Les têtes conidiennes, strictement unisériées, en colonne compacte sont d'abord bleu-vert puis virant au vert bronze. Les conidiophores sont courts (300-500 μm), lisses, s'élargissent insensiblement au sommet en formant des vésicules sub-hémisphériques. Ces dernières (20-30 μm en diamètre), vertes, sont fertiles dans leur moitié supérieure. Les phialides dressées, sont densément groupées, de couleur verte. Les conidies sont globuleuses à sub-globuleuses, mesurent 2(2,5)-3 (3,5) μm de diamètre, et sont échinulées (Tabuc., 2007)

Aspergillus Ochraceus : (figure 4)

Caractères cultureux : Ce champignon pousse rapidement (2-3 jours) sur les milieux de culture classiques à une température de 25 à 30°C.

Les colonies d'*A. Ochraceus* sont poudreuses ou granuleuses, blanches au début, puis jaunes ou ocre-jaunes à chamois. Le revers de colonies est incolore au jaune pâle

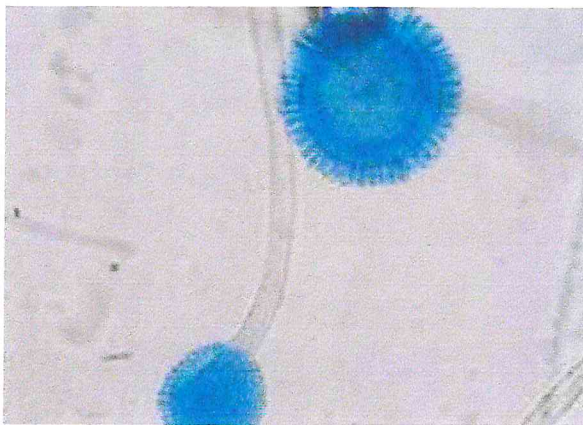


Figure 4: *Aspergillus Ochraceus* (aspect microscopique). (Tabuc., 2007)

Morphologie microscopique : Les têtes conidiennes sont bisériées, d'abord globuleuses puis se séparent en 2 ou 3 colonnes divergentes, bien individualisées, de

couleur jaune, ocre-jaune ou chamois. Les conidiophores sont rugueux, jaunes à brun pâle, longs atteignant 1,5 mm. Les vésicules sont globuleuses, hyalines, 30-50 μm en diamètre. Les phialides (7-10 x 2-3,5 μm) sont portées par des métules, de dimensions variables. Les conidies sont sub-globuleuses à globuleuses. Elles mesurent 2,5-3 (3,5) μm de diamètre, sont finement échinulées ou lisses. Les sclérotes, souvent présents, de couleur lavande à pourpre, sont globuleux, ovales ou cylindriques, et atteignent 1mm de diamètre. (Tabuc., 2007)

Aspergillus oryzae : (figure 5)

Caractères culturaux :

Ce champignon se développe rapidement sur les milieux classiques (gélouses au malt et Sabouraud) à 22-25°C. (Tabuc., 2007)

Sur milieu de culture *A. oryzae* forme des colonies duveteuses à poudreuses, d'abord de couleur blanche, puis jaune, et enfin vert-jaunâtre à vert olive. Le revers peut être incolore ou jaunâtre. (Tabuc., 2007)

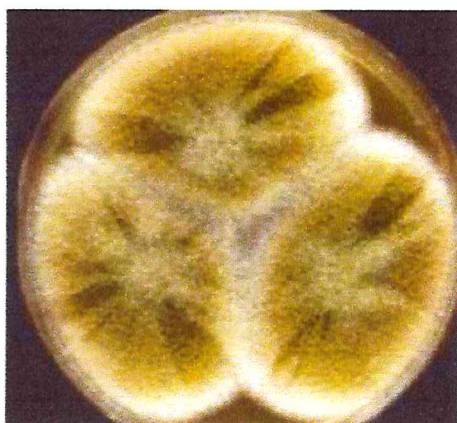


Figure5 : *Aspergillus oryzae* : culture de 7 jours sur gélose au malt à 25°C.(Tabuc.,2007)

Morphologie microscopique : *A. oryzae* peut souvent être confondu avec *A. flavus*.

Les têtes unisériées ou bisériées (les deux aspects pouvant cohabiter sur une même souche), sont radiées, jaunâtre au début puis jaune verdâtre à vert-olive, puis évoluent vers des tons bruns. (Tabuc., 2007)

Les conidiophores, hyalins, sont souvent longs (2,5-5 mm), plus ou moins verruqueux suivant les souches. Les vésicules sont sub-globuleuses, à paroi mince, mesurent 40-75 μm de diamètre. Les phialides (8-15 x 3-5 μm) sont insérées directement sur la vésicule ou portées par des métules. Les conidies d'abord piriformes à elliptiques deviennent

sub-globuleuses à globuleuses, de taille très variable, lisses ou finement verruqueuses. (Tabuc., 2007)

I.2.2. Le genre *Prototheca* :

Sont des algues unicellulaires, elles sont omniprésentes dans la nature et peuvent être isolées à partir de la sève des arbres, du sol, des déjections d'animaux, de l'eau, et des eaux d'égouts (Jaglelski et Lagneau., 2007)

Le fumier constitué le plus souvent la principale source de contamination, le cartier atteint présentait une diminution de la production laitière et un lait de consistance anormale (Lopes et *al.*, 2008)

Deux espèces sont impliquées dans la pathologie mammaire : *Prototheca zopfii* et *Prototheca trispora* (Radostis et *al.*, 1994)

La culture de l'espèce *P. zopfii* est aisée sur un milieu gélosé de Sabouraud, sur une gélose au sang ordinaire, ou encore sur tout autre milieu mycologique ne contenant pas de cycloheximide. Après 48h d'incubation à 35°C, les colonies ressemblent à celles de levure du genre *Candida*. L'examen microscopique révèle des cellules ovales, parfois réniforme, de taille variable. La formation des cellules filles à l'intérieur d'une cellule mère aide à distinguer les protothèques d'autres agents pathogènes (Lagneau, 2004)

La présence de ces germes dans les mamelles semble bien liée à leur présence dans les bouses. (Lagneau, 2004)

Cette espèce est hautement sensible à la lactoferrine bovine et elle est complètement inhibée à une dose de 7µg/ml. (Lee et *al.*, 2004).

L'infection due à *P. zopfii* est grave sur le plan économique, car elle entraîne une mammite chronique rebelle à toute thérapie et l'animal atteint demeure une source de contamination pour le reste du troupeau. De Plus, l'excrétion de ces microorganismes est intermittente et peut conduire à l'erreur quand à l'interprétation des résultats lors d'enquêtes épidémiologiques (Quinn et *al.*, 2002)

I.2.3. Le Genre *Penicillium* : (figure 6)

Les *Penicilliums* sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations. Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost, les céréales. Les espèces du genre *Penicillium* se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la

croissance des *Aspergillus*, à des températures plus basses. Il s'agit de contaminants fréquents des régions tempérées.

Caractères cultureux généraux

Les *Penicillium* se développent rapidement et facilement sur les milieux de culture utilisés en routine (géloses au malt, Sabouraud). Ils se développent à des températures modérées de l'ordre de 20-27°C. Après 2 jours d'incubation, on observe des petites colonies plates, formées de courts filaments aériens, habituellement blancs. Après 3-4 jours d'incubation, la sporulation va conférer aux colonies leur teinte, le plus souvent dans les tons vert, vert bleu, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu mais aussi, pour certaines espèces, jaune, orange, chamois, rose, ou rouge. Les *Penicillium* peuvent former des colonies floconneuses (*P. camembertii*, *P. nalgiovense*), funiculeuses (*P. funiculosum*), granuleuses (*P. expansum*, *P. griseofulvum*), veloutées (*P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. roquefortii*...)

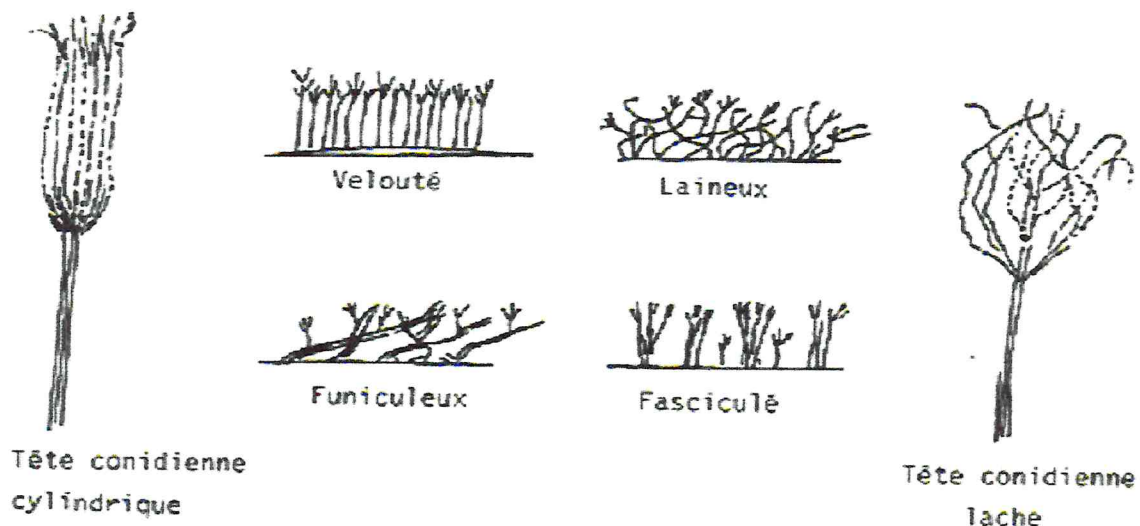


Figure 6 : Caractères du thalle de genre *Penicillium* (Botton et al., 1990).

Morphologie microscopique

Au point de vue morphologique les *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau. Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien individualisés

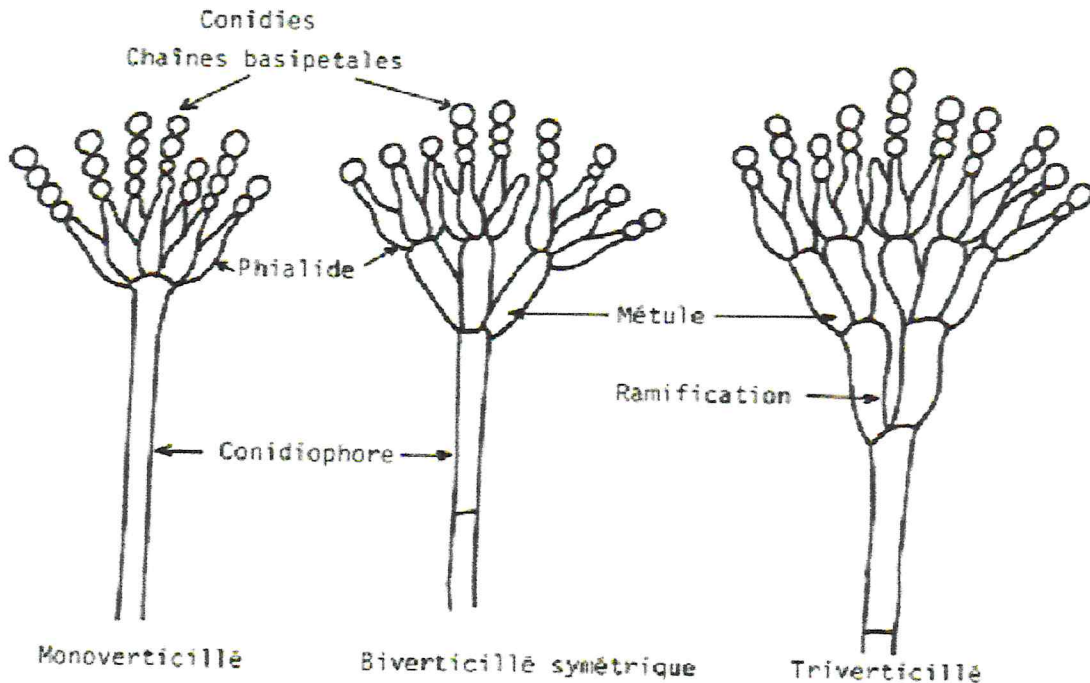


Figure 7 : Caractères morphologiques des *Penicillium*. (TABUC., 2007).

I.2.4. Le genre *Candida* :

Ce genre comprend plus de 200 espèces. *Candida albicans* est l'espèce le plus souvent impliquée dans la maladie animale due à *Candida* sp. (Quinn et al., 2002).

Ce genre de levures répandu dans tout le monde habité et normalement commensal parfaitement toléré par l'organisme sain, peut se trouver sur la peau et dans le tube digestif. Il devient pathogène et provoque parfois des mycoses chez les humains et les animaux quand l'organisme est affaibli. Il est à l'origine de mammites au moins chez les bovins (Bidau et al., 2007).

Toutes les espèces à l'exception de *C. albicans* ne croient pas en présence de cycloheximide. (Quinn et al., 2002).

Sur un milieu solide, les colonies sont humides, les colonies sont humides, luisantes, d'aspect crémeux, à surface bombée en milieu, alors que dans les milieux liquides d'isolement, on observe une membrane, des anneaux ou un simple dépôt.

De nombreux auteurs ont isolé des levures à partir de lait de vaches saines et souffrant de mammites, ils sont aussi impliqués dans des cas d'avortement d'origine mycosique. (Quinn et al., 2002) et (Dwight et Zee., 2002).

I.2.5. Le genre *Rhodotorula* :

Levure très répandue dans la nature, retrouvée au niveau du sol, dans l'air, l'eau, les aliments et produits laitiers (Costa et *al.*, 2005),

I.2.6. Le genre *Cryptococcus* :

Ce genre renferme environ 37 espèces, seul *C. neoformans* est à l'origine d'infections opportunistes (Quinn et *al.*, 2002). Dans le cas des mammites fongiques, *C. neoformans* est l'espèce la plus dangereuse et la plus pathogène. (Spanamberg et *al.*, 2008)

I.2.7. Le genre *Mucor* : (figure 8)

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

D'après Chabasse et *al.*, (2002), les *Mucorales* se caractérisent par :

- Les filaments larges peu ou pas septés.
- Pas de stolons ni de rhizoïdes.
- Les sporocystophores issus le plus souvent du thalle végétatif, ils se terminent par une columelle ovoïde sans apophyse et présentent souvent un rétrécissement sous la columelle.
- Sporocystes globuleux.
- Spores rondes à ellipsoïdales, lisses ou ornementées de spicules.
- Chlamydo-spores parfois présentes et abondantes.

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

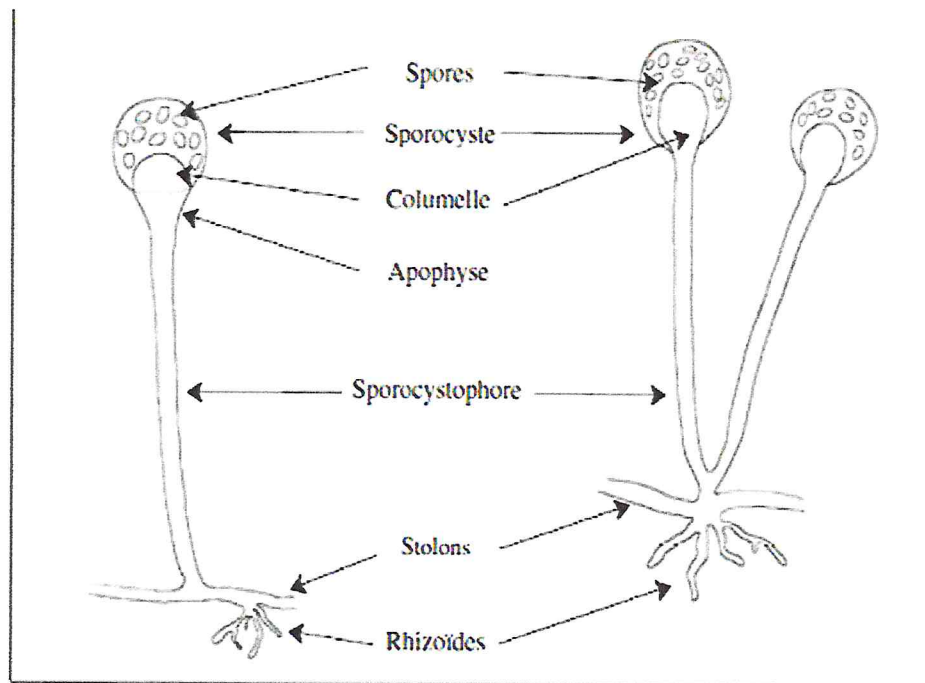


Figure 8 : Appareil reproducteur des Mucorales (CHABASSE et al., 2002)

I.2.8. Le genre *Mortierella* :

Mortierella wolfii pousse bien à 37°C et jusqu'à 45°C. La culture est rapide et extensive, la colonie est floconneuse, de couleur blanche devenant grise, le verso est incolore (Chabasse et al., 2002).

I.2.9. Le genre *Geotrichum* :

Largement répandu dans la nature comme le sol, le fourrage...etc. Les colonies de *Geotrichum candidum* sont jaunâtres, plates, humides avec une surface granuleuse. Microscopiquement, les mycéliums sont septés, fragmentés en rectangles (arthroconidies), visibles après coloration au bleu de lactophénol ou coloration de Gram (Chahota et al., 2001). De nombreuses autres espèces appartenant à d'autres genres de la division des Deutéromycètes, sont incriminées dans la pathologie mammaire : *Acremonium* ; *Alternaria* ; *Aureobasidium* ; *Epicoccum* ; *Poecylomyces* et *Phoma*.

I.2.10. Le genre *Rhizopus* :

Impliqué dans de nombreux cas de mammite et d'avortement d'origine mycosique. Parmi les espèces, on distingue : *Rhizopus boyinus* ; *Rhizopus arrhizus*. Ils sont caractérisés par la présence de stolons et de rhizoïdes et sporocystophores. Ces trois éléments naissent d'une même origine : le nœud. Comme tout les mucorales, les *Rhizopus* présentent une croissance très rapide et extensive. Les colonies ont une structure

cotonneuse de couleur blanche au départ, deviennent grises et foncées en vieillissant. L'optimum thermique est de 25 à 37°C (Chabasse et *al.*, 2002).

I.2.11. Le genre *Absidia* :

D'après Ali et Khan, 2006, de nombreuses espèces peuvent être responsables d'avortement mycosique : *Absidia corymbifera* ; *Absidia ramasa*. Ces deux espèces sont très fréquemment isolées des cas d'avortement d'origine mycosique. Les sporocystophores isolés ou groupés, fixés au milieu des stolons. Ils se terminent par une large apophyse conique. La columelle est hémisphérique avec des spores cylindriques lisses, jaunâtres. Les colonies à croissance rapide, envahissant rapidement la boîte ou le tube, et de texture floconneuse, de couleur grise en surface, incolore au verso (Chabasse et *al.*, 2002).

II. EPIDEMIOLOGIE DES MAMMITES FONGIQUES

II.1. EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE :

II.1.1. Population affectée :

Toutes les vaches du troupeau peuvent être affectées. Aucune prédisposition de race n'a été relevée jusqu'à présent (Coube, 1997)

II.1.2. Répartition géographique et fréquence :

En effet, il a été démontré que la mammite mycosique est une pathologie cosmopolite après avoir signaler plusieurs cas de mammites mycosiques dans plusieurs pays à travers le monde.

II.1.3. Aspect épidémiologique :

Il existe deux formes de mammite mycosique: **la forme sporadique** et **la forme épizootique**.

II.1.3.1. La forme sporadique :

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

II.1.3.2. La forme épizootique :

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

II.2. EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE :

II.2.1. Sources et matières virulentes :

II.2.1.1. Sources primaires :

Les moisissures sont omniprésentes dans notre environnement. La plupart sont phytopathogènes et se développent en saprophytes dans la terre et sur les plantes ou débris végétaux en voie de putréfaction. L'humidité favorise leur survie et leur développement.

Elles sont retrouvées dans l'air, sur le sol et les surfaces (verticales ou horizontales), dans l'alimentation et parfois dans l'eau.

II.2.1.1.1. Litière, habitat et les matières fécales :

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

L'humidité est le facteur essentiel nécessaire à la prolifération fongique. La teneur en eau de l'air participe à l'humidité des matériaux, elle peut être évaluée. On peut définir et mesurer la disponibilité en eau, ou Aw, des différents matériaux (Groupe de travail «Moisissures dans l'habitat » Septembre 2006)

II.2.1.1.2. L'alimentation :

Les aliments composés peuvent être contaminés par les spores qui étaient initialement présentes dans les céréales ou dans les autres ingrédients (oléagineux) qui entrent dans leur composition. Ils peuvent aussi être contaminés au cours du processus de fabrication ou pendant le stockage. Les espèces de moisissures les plus fréquemment retrouvées dans les aliments composés appartiennent aux mêmes genres que ceux contaminant les céréales: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*. (Tabuc, 2007)

Malgré un processus technologique permettant souvent la réduction de la contamination fongique à cause de l'élévation de température (pendant la granulation par exemple), les résultats disponibles montrent souvent une contamination fréquente par de nombreuses espèces fongiques (Tabuc, 2007)

II.2.1.1.3. Le matériel de traite :

La machine à traire a pour vocation d'extraire le lait des mamelles des vaches laitières tout en respectant la santé de la mamelle et la qualité du lait. (Cécile., 2008).

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

Les machines sont habituellement la source de contamination la plus importante. Ce sont des milliards de germes qui peuvent exister sur les parois d'ustensiles laitiers mal lavés et mal séchés. La machine à traire mal nettoyée est certainement une source de contamination d'une importance considérable (Heuchel et al, 2001).

KSOURI (2008) a pu isoler des champignons à partir des manchons trayeurs de la machine de traite avant et après la traite. Les résultats étaient les suivants :

✓ Avant la traite :

Candida tropicalis ; *Candida guilliermondi* ; *Trichosporon cutaneum* et *Trichosporon capitatum*.

✓ Après la traite :

Candida pseudotropicalis ; *Torulopsis sp.* ; *Yrichosporon fermentans* et *Geotrichum candidum*

II.2.1.1.4. Les mains des trayeurs :

Les mains du trayeur seront propres et régulièrement désinfectées pendant la traite. L'emploi de gants en latex a été recommandé. La surface des mains est habituellement rugueuse et le plus souvent contaminée, cette contamination augmentant en cours de le traite. A l'inverse la surface lisse des gants est beaucoup plus aisée à désinfecter. L'emploi des gants ne dispense pas le trayeur de les désinfecter régulièrement en cours de traite. (Hanzen, 2009). Tableau III présente les espèces isolées à partir des mains des trayeurs.

	Espèces isolées	
	Avant la traite	Après la traite
Mains droites	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Penicillium sp.</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Candida sp.</i>
Mains gauches	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Penicellium sp.</i>	<i>Aspergillus nidulans</i> <i>Torulopsis sp.</i>

Tableau III : Espèces isolées à partir des mains des trayeurs avant et après la traite (KSOURI, 2008)

II.2.1.1.5. Produits de traitement intra-mammaire :

Les levures responsables d'infections mammaires appartiennent aux genres *Cryptococcus* et *Candida* (*Candida krusei* étant la plus fréquemment isolée. Elles sont à l'origine de mammites cliniques subaiguës s'aggravant suite à l'utilisation d'antibiotiques, évoluant ensuite vers la chronicité, et ne pouvant pas être traitées (absence d'antifongique actif dans

la mamelle sur le marché). Elles ont pour source l'environnement, et en particulier l'alimentation, la peau, les fèces des animaux, le sol, et les plantes. L'infection a généralement lieu lors d'injection intra-mammaire avec une seringue ou un produit contaminé d'où l'importance de la désinfection de la peau et de l'entrée du canal du trayon lors de toute injection intra mammaire. (Jean-Baptiste, Gandon., 2010)

II.2.2. Réceptivité :

Les mycoses résultent dans la plupart des cas de l'accumulation d'un certain nombre de facteurs favorisant, autres prédisposant et enfin des facteurs de déclenchement. Les facteurs prédisposant aux mycoses sont les suivants :

- Immunodépression ;
- Défectuosités du système immunitaire ;
- Immaturité, vieillissement et malnutrition ;
- L'exposition massive aux agents mycosiques ;
- Traumatismes tissulaires ;
- Persistance des champignons à la surface de la peau ;
- Antibiothérapie prolongée ;
- Néoplasies. (Quinn et *al.*, 2002),
 - ❖ On peut classer ces facteurs en : facteurs intrinsèques et extrinsèques

II.2.2.1. Les facteurs intrinsèques :

II.2.2.1.1. La race :

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

II.2.2.1.2. L'âge:

L'incidence des mammites augmente avec l'âge, le sphincter du trayon perdant de son élasticité, et la mamelle se rapprochant des jarrets. (Noireterre., 1981).

La fréquence des infections augmente avec le nombre de lactation des animaux, avec l'âge, il y a une fatigue progressive de la mamelle et le tissu mammaire perd de son élasticité ; le calibre de sphincter du trayon devient de plus en plus lâche et laissant passer les germes à l'intérieur de la mamelle. Il existe une relation certaine entre l'âge de l'animal et son statut sanitaire. Il est également connu que l'activité du polymorphonucléaire est élevée chez les primipares. (Hanzen, 2008)

II.2.1.3. La production laitière :

Dans la plupart des cas, les infections mammaires apparaissent durant les deux premiers mois de lactation (Dwight et Zee, 2002). Où il ya une production laitière importante (pic de lactation).

II.2.2.2. Les facteurs extrinsèques :

II.2.2.2.1. Les facteurs climatiques :

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

II.2.2.2.2. Les facteurs alimentaires :

Des carences en vitamines A ou E, en bêta-carotène ou en oligo-éléments comme le sélénium, le cuivre, et le zinc entraînent une augmentation de l'incidence des mammites, Une bonne alimentation, équilibrée d'un point de vue quantitatif et qualitatif est indispensable au maintien d'un bon statut immunitaire. Tout déséquilibre peut favoriser le développement des champignons. (Dwight et Zee, 2002)

II.2.2.2.3. Les facteurs pathologiques :

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

II.2.2.2.4. Les facteurs thérapeutiques :

❖ Les antibiotiques :

Après la découverte des antibiotiques et la banalisation de l'antibiothérapie, une augmentation de l'incidence de la mammite fongique a été reportée, le plus souvent associée au traitement préventif ou curatif des mammites bactériennes (Pengov., 2002)

Les espèces du genre *Candida* utilisent les pénicillines et oxytétracyclines injectées comme source d'azote ((Hanzen.,2009).

❖ Les corticoïdes :

Sont des immunodépresseurs qui favorisent le développement des champignons.

II.2. 3. MODES DE CONTAMINATION

La contamination se fait essentiellement par inhalation de spores. Des infections localisées, post-traumatiques ou non, peuvent également résulter d'une contamination directe et atteindre par exemple, la peau, le conduit auditif externe (otomycose) ou la cornée (kératite). Plus rarement, la contamination est d'origine digestive.

III- EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE :

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

La mamelle est en contact permanent avec les éléments fongiques par le biais de la litière, des mains des trayeurs, de la machine à traire... Ces facteurs sont dits : « facteurs de contamination ».

La source de contamination du milieu sont multiples (alimentation, sécrétions vaginales, la matière fécale...). Ces sources de contamination sont qualifiées de « facteurs d'enrichissement ».

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

III. PATHOGENIE DES MAMMITES FONGIQUES

III.1. PENETRATION DES MICRO-ORGANISMES :

Etant donné l'ubiquité des agents fongiques dans l'environnement des animaux, la voie de pénétration exogène à travers le canal du trayon est la plus probable. En effet, plusieurs auteurs ont qualifié cette voie comme étant la voie majeure à l'origine de l'infection mammaire. (Sharif et Muhammad, 2009). Les vaches présentant des lésions à l'extrémité des trayons ont trois fois plus de risque à développer des mammites que ceux ne présentant aucunes lésions. La voie hématogène (sanguine) est probable mais secondaire. Dans ce cas, l'infection mammaire d'origine endogène peut se manifester suite à la dissémination du champignon à partir d'un foyer primaire qui peut être pulmonaire dans le cas d'aspergillose invasive, digestif dans le cas de candidose ou autres. (Kirk et Sicho., 2003),

III.2. ADAPTATION AU NOUVEL ENVIRONNEMENT ET GERMINATION :

III.2.1. Les facteurs liés à l'animal :

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

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

D'après (Romani, 2004), le principal facteur prédisposant aux infections dues à *Candida* sp. est le dysfonctionnement du système immunitaire à médiation cellulaire. Ce dysfonctionnement d'origine congénitale ou acquise implique une insuffisance quantitative ou qualitative des neutrophiles et des lymphocytes T.

III.2.2. Les facteurs liés à l'agent mycosique :

la phagocytose peut s'avérer inefficace et certains champignons peuvent échapper aux cellules phagocytaires surtout si l'infection est massive. Cette résistance est rencontrée lors d'infection cryptococcique due à la présence d'une capsule rigide de nature mucopolysaccharidique empêchant la phagocytose. De même, la localisation intracellulaire de *Prototheca.zopfii* rend difficile leur élimination. La voie d'inoculation et la dose représentent les facteurs extrinsèques. (Quinn et al., 2002)

III.3. ELABORATION DES SUBSTANCES TOXIQUES :

le champignon envahissant la mamelle se développe et synthétise des toxines. De nombreuses espèces appartenant au genre *Aspergillus* sont connues pour leur capacité à produire certaines mycotoxines (Pitt, 2000).

Aspergillus élabore des substances telles que l'élastase, qui facilite l'invasion des tissus non nécrosés et la pénétration dans la circulation sanguine. (Blonco et Garcia., 2008)

Aspergillus flavus et *A. parasiticus* sont les principaux producteurs d'aflatoxines. L'aflatoxine B1 est classée comme cancérigène chez l'homme et l'animal (I.A.R.C, 1993).

Aspergillus fumigatus synthétise plusieurs métabolites très toxiques comme la fumagiline, l'acide helvolique, la gliotoxine, les dérivés quinoniques, des alcaloïdes voisins de ceux de l'ergot de seigle. (Tabuc., 2007)

Aspergillus niger peut produire de l'acide oxalique, des malformines et, certaines souches, des aflatoxines. (Tabuc., 2007)

Aspergillus ochraceus est le principal producteur d'ochratoxine A. Il colonise lui aussi de très nombreux substrats.

La majorité d'espèces du genre *Penicillium* sont capables de produire des mycotoxines : l'acide cyclopiazonique (*Penicillium chrysogenum*), l'acide pénicillique (*Penicillium cyclopium*) ; la patuline ou la clavacine (*Penicillium expansum*, *Penicillium griseofulvum*), la citrinine (*Penicillium expansum*), l'ochratoxine A (*Penicillium verrucosum*) (Pitt, 2000).

Le genre *Fusarium* comprend des espèces capables de produire de nombreuses mycotoxines: les trichothécènes, la zéaralénone et les fumonisines. (Tabuc., 2007)

III.4. DISSEMINATION DE L'AGENT INFECTIEUX :

Suite à l'adaptation du champignon au nouvel environnement et à la dépression des défenses immunitaires, la multiplication et la germination en mycélium contribue à

l'invasion du tissu mammaire, la dissémination du champignon dans l'organisme animal et la colonisation d'autres organes. (Benbelkacem., 2010)

Il faut noter que le pouvoir de dissémination des champignons tient compte l'espèce en cause et le statut immunitaire de l'animal. La dissémination d'*Aspergillus sp.* à partir de la mamelle aux organes internes a été observée chez des ovins souffrant de mammite aspergillaire. Cette dissémination n'a pas été signalée chez tous les individus infectés (Lopez et *al.*, 2001).

VI : DIAGNOSTIC DES MAMMITES FONGIQUES

VI.1. DIAGNOSTIC EPIDEMIO-CLINIQUE :

L'infection mycosique de la glande mammaire peut évoluer d'une façon sporadique ou au contraire affectant la majorité des animaux. Cependant, la sévérité de l'infection dépend du nombre de microorganismes présents dans la glande mammaire et de l'espèce impliquée (Lagneau et *al.*, 1996).

L'infection mycosique de la mamelle peut se présenter sous différentes formes :

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

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

VI.1.1. Les circonstances d'apparition :

L'apparition de mammites à champignons présuppose une infection bactérienne préexistante, un traitement antibiotique préalable et un nombre important de germes. L'infection est aisée et apparaît en moyenne 4 à 10 jours après la contamination. (Hanzen., 2009).

VI.1.2. Les éléments de suspicion :

L'apparition de mammites à champignons présuppose une infection bactérienne préexistante, un traitement antibiotique préalable et un nombre important de germes. L'infection est aisée et apparaît en moyenne 4 à 10 jours après la contamination. Les infections à champignons sont à suspecter lorsque les traitements intra-mammaires apparaissent inopérants ou ont été effectués sans avoir respecté les mesures d'hygiène habituelles. (Hanzen.,2009).

Dans le cas des infections dues à *Candida sp.* , les lésions sont habituellement limitées à la citerne et les signes locaux peu marqués. L'affection est généralement bénigne et régresse en l'espace d'une semaine. L'infection par un *Aspergillus* se traduit par l'apparition de multiples abcès dans le tissu mammaire. Ceux-ci s'entourent de tissu de granulation (Hanzen ,2009).

Ce type du diagnostic est insuffisant dans le cas des mammites mycosiques. Il faut toujours se référer aux circonstances d'apparition, qui en plus des symptômes cliniques, peuvent orienter le diagnostic clinique.

VI.2. DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL :

VI.2.1. Diagnostic mycologique :

L'isolement et l'identification du champignon constituent les moyens de diagnostic les plus fiables dans le cas des mammites mycosiques. Un champignon se détermine par l'aspect macroscopique des colonies, par ses formes microscopiques et par ses caractères physiologiques

VI.2.2.1. Échantillonnage : Comme pour tous les prélèvements, il faut toujours respecter les mesures d'asepsie et d'antisepsie.

VI.2.2.2. Examen direct : Cet examen permet de mettre en évidence les éléments fongiques : filaments, mycéliums, levures. Il n'est positif que lorsque la teneur en ces éléments est massive.

Technique :

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

La coloration de Gram

L'encre de chine, lors de l'infection cryptococcique, permet la mise en évidence de la capsule caractéristique.

Le May-Grunwald-Giemsa (MGG)

Le bleu coton

Le bleu de lactophénol

Le bleu de méthylène

L'acide périodique de Schiff...

Observations et résultats : Pour chaque lame, une observation à faible grossissement (100X-200X) est réalisée afin d'identifier les régions de la lame qui contiennent du matériel fongique. L'analyse à 400X-600X de la lame se concentre sur la ou les

régions qui ont été identifiées comme ayant du matériel présent. Si aucune région ne peut être identifiée, la lame entière est balayée pour l'analyse (Marchand *et al.*, 2007). Pour les résultats, on doit être très attentifs à leurs interprétations. Selon Quinn *et al.*, (2002), un animal porteur d'un champignon peut ne pas excréter les éléments mycosiques ou bien les excréter d'une façon intermittente, ce qui affecte la sensibilité du test, comme c'est le cas des infections mammaires dues à *Prototheca zopfii*.

VI.2.2. Diagnostic biochimique :

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

VI.2.3. Diagnostic sérologique :

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

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

Il existe de nombreuses réactions de croisement entre les différents genres. Il sera difficile de faire un diagnostic précis. Selon (Dismukes *et al.*, 2003), les tests sérologiques sont suggestifs et constituent un appui au diagnostic mycologique. Les tests de détection des anticorps ne sont pas utiles chez les sujets immunodéficients, car ils sont incapables de former des anticorps détectables par la réaction immunologique. (Dismukes *et al.*, 2003). L'autre test sérologique permet la détection des antigènes spécifiques. Cependant l'interprétation des résultats doit prendre en considération plusieurs facteurs importants. (Dismukes *et al.*, 2003)

Le test utilisé doit avoir une sensibilité élevée pour pouvoir détecter des quantités minimales des antigènes.

VI.2.3.1. Techniques : Il existe plusieurs techniques pour le diagnostic sérologique des infections mycosiques, mais les résultats sont inconstants à cause de leur sensibilité variables selon plusieurs facteurs.

ELISA ;

Fixation du complément (FC) ;

Hemagglutination indirecte ;

IDPT (immunodiffusion tube precipitin test)...

VI.2.4. Diagnostic moléculaire

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

V. TRAITEMENT DES MAMMITES FONGIQUES

Le traitement des infections mammaires constitue une problématique majeure dans tous les élevages laitiers. Face à un cas de mammite mycosique, la position du praticien est toujours délicate car il n'existe pas de traitement spécifique aux mammites mycosiques. Le traitement de la mammite mycosique doit prendre en considération l'espèce en cause ainsi que l'aspect épidémiologique de l'agent mycosique. (Ksouri, 2008)

V.1. TRAITEMENT NON SPECIFIQUE

V.1.1. Le traitement sanitaire :

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

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

La traite fréquente constitue une démarche logique pour traiter une mammite. Son rôle est de renouveler les leucocytes présents dans la glande mammaire. En effet, après quelques heures dans le lait, les polynucléaires neutrophiles et les macrophages perdent toute activité phagocytaire suite à l'ingestion de protéines et de matière grasse. La traite permet d'éliminer ces leucocytes et de les remplacer par une population nouvelle et donc beaucoup plus efficace pour lutter contre l'infection (Hanzen., 2007).

V.1.2. Le traitement médical :

V.1.2.1. Les antiseptiques et antibiotiques :

l'utilisation de préparations à base d'iode peut être efficace dans le traitement des infections mammaires d'origine mycosique. (Dwight et Zee., 2002)

Les champignons sont habituellement résistants aux antibiotiques mais sensibles aux dérivés iodés (Hanzen., 2009).

V.1.2.2. Les traitements adjuvants :

Certains praticiens préconisent le recours à la traite fréquente combinée à l'injection d'anti-inflammatoire non stéroïdien pendant 2 à 3 jours. L'application locale d'un

onguent à base de salicylate de méthyl, menthol ou eucalyptol est également conseillée. Une amélioration peut être observée rapidement ou prendre 15 jours (Hanzen., 2009).

V.2. LES TRAITEMENTS SPECIFIQUES (AGENTS ANTIFONGIQUES) :

Il n'existe pas de spécialités pharmaceutiques à base d'agents antifongiques destinées au traitement des mammites mycosiques. Nous allons nous limiter à la description des agents antifongiques cités dans les différentes publications en rapport avec le traitement des mammites mycosiques. (Ksouri, 2008)

De même, methopyridazine par voie parentérale est efficace pour le traitement des mammites dues à *Candida sp.* *Candida* s'est révélé sensible au clotrimazole, à la nystatine, à la polymyxine B, au miconazole (Hanzen, 2009).

D'après Lassa et Malinowski, (2007) qui ont testé la sensibilité in vitro de *Prototheca zopfii* aux différents agents antifongiques, 77,8 et 44,4 % ont été respectivement sensibles à la nystatine et au kétoconazole. Seulement 11,1 % des souches étaient sensibles à l'amphotéricine B. Cependant la sensibilité in vitro ne garantit pas l'efficacité in vivo du traitement antifongique contre les infections dues aux agents mycosiques.

On utilise des dérivés iodés : 1,8 g d'iode dans 2 litres de paraffine et 23 ml d'éther : injection de 60 à 100 ml / j pendant 2 à 3 jours, traire après 6 à 8 heures (Hanzen., 2005)

V.3. LA TOXICITE :

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

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques produits par certaines souches de moisissures dans les milieux où elles se développent.

Parmi la centaine de mycotoxines identifiées à l'heure actuelle, une trentaine sont véritablement importantes pour la santé humaine et animale à cause de leur fréquence ou de leur toxicité (Bennett et Klich., 2003). Les toxines majeures (Tableau 1) sont produites par des souches fongiques appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Afssa, 2006).

V.4. LA RESISTANCE :

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

La résistance primaire ou innée, sans thérapeutique antifongique préalable.

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

IV. PROPHYLAXIE DES MAMMITES FONGIQUES

Les mesures de lutte contre les mammites sont de nature médicale (traitement des animaux atteints ou stimulation des moyens de défense spécifique ou non spécifique) ou sanitaire (Réforme des incurables, intensification de l'hygiène et de la technique de traite). Elles ont pour but essentiel de réduire la prévalence des infections dans le troupeau en agissant sur la persistance et/ou sur l'incidence des infections (Hanzen., 2007)

IV.1. PROPHYLAXIE MEDICALE :

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

IV.2. PROPHYLAXIE SANITAIRE :

IV.2.1. L'indice de propreté des animaux.

Un mauvais état de propreté favorise une augmentation de la contamination du lait en germes butyriques et totaux, augmente le risque de mammites, constitue un surcroît de travail pour le nettoyage des trayons (Hanzen., 2009).

IV.2.2. Hygiène et technique de traite :

La décontamination mécanique doit suivre les décontaminations chimique et biologique. Elle sera obtenue par l'essuyage indispensable du trayon au moyen de la même serviette individuelle essorée qui a servi au lavage du trayon ou mieux au moyen de papier jetable de bonne qualité : L'essuyage de la mamelle après désinfection doit se faire avec des lavettes individuelles à usage unique. (Hanzen., 2009).

L'installation de traite peut augmenter le risque d'apparition des mammites par divers mécanismes. Elle peut induire l'apparition de lésions (effet traumatisant), favoriser la dissémination de germes (rôle de vecteur) ou leur passage dans la mamelle (rôle infectant) (Federici-Mathieu et Godin., 2002).

IV.2.3. L'Alimentation :

Le déterminisme alimentaire des mammites est loin d'être complètement élucidé. Ces relations semblent être essentiellement de nature indirecte et résultent de l'effet prédisposant de certains désordres nutritionnels sur des pathologies favorisant elles-mêmes l'apparition des mammites (Hanzen., 2009).

La nature des procédés de fabrication implique souvent la réalisation de traitements thermiques suffisants pour détruire les spores fongiques présentes. Il peut néanmoins se poser la question de recontamination de ces produits après le traitement thermique et le développement des moisissures pendant le stockage. (Tabuc., 2007)

IV.2.4. La sélection génétique :

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

PARTIE EXPERIMENTALE

I. TECHNIQUES DE PRELEVEMENTS

I.1. Techniques des prélèvements pour l'analyse mycologique :

I.1.1. Prélèvements de lait :

Le prélèvement est relativement simple, mais il doit être précis et rapide afin de ne pas le contaminer. La première étape est le nettoyage correct du trayon avec de l'eau tiède et du savon et une lavette. On essuie ensuite avec du papier absorbant et on renouvelle l'opération jusqu'à ce que le papier soit propre. Après avoir revêtu des gants on procèdera à la désinfection du trayon, surtout le bout, avec un coton imbibé d'alcool à 70 °. Puis, on prend un flacon stérile entre le pouce et l'index et on oriente le bouchon vers le bas, on dévisse celui-ci avec la main droite. Le bouchon est placé immédiatement entre le pouce et l'index de la main gauche, protégeant l'ouverture du pot. On approche le flacon à l'horizontale du trayon, on élimine les premiers jets sur le sol puis on dirige 3 à 4 jets vers le récipient, on rebouche celui-ci immédiatement (figure 2)

On identifie le pot avec le numéro de la vache, le quartier et la date du prélèvement. Ce dernier est ensuite placé dans la glacière si une autre visite est à réaliser avant de retourner au cabinet vétérinaire. La culture doit se faire dans les 48 heures en frais, sinon il y a mise en congélation. Celle-ci permet de garder les prélèvements sur une longue durée, mais il peut y avoir une fragilisation de certains germes avec une chute du nombre de bactéries présentes et donc une augmentation de cultures négatives.

Un cryoconservateur comme le glycérol, utilisé en transplantation embryonnaire, peut être ajouté au lait, à raison de 10 %, de manière stérile pour améliorer la conservation des germes les plus fragiles (entérobactéries).

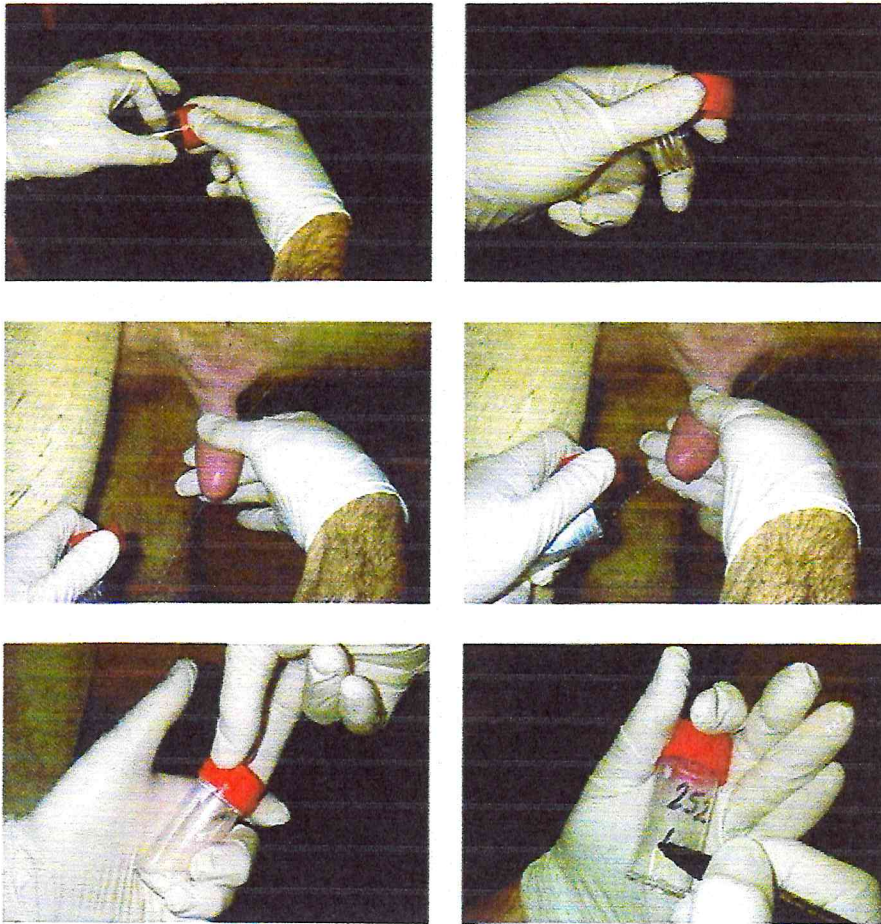


Figure 9 : Technique de prélèvement de lait d'après Faroult et Lepage 2006

I.1.2. Prélèvements d'aliments :

Les prélèvements sont réalisés à partir des aliments distribués dans les mangeoires au niveau des l'étable.

Au niveau des exploitations, on préleve un échantillon du concentré « VL : vache laitière », dans un flacon stérile tout en respectant les mesures d'asepsie et d'antisepsie pour éviter la contamination de l'échantillon.

I.1.3. Les écouvillonnages :

I.1.3.1. Ecouvillonnage vaginal :

Après lavage de la région du périnée à l'aide d'une solution antiseptique (eau javellisée), essuyage avec une éponge, et écartement des lèvres vulvaires, on a introduit l'écouvillon dans le vagin. L'écouvillonnage est assuré par frottement de l'écouvillon contre la muqueuse vaginale.

I.1.3.2. Ecouvillonnage des manchons trayeurs :

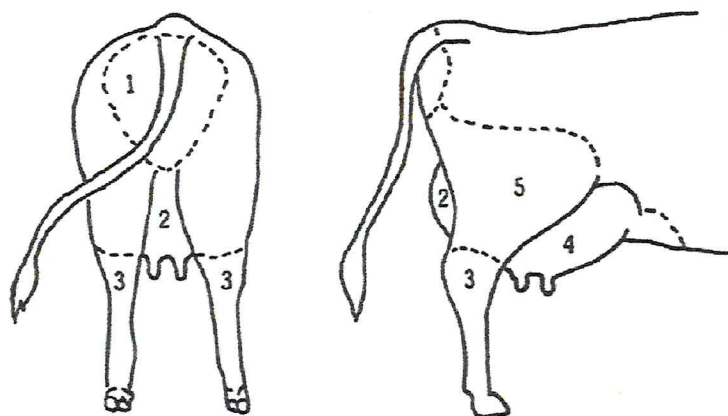
L'écouvillonnage est fait par frottement des écouvillons contre les manchons trayeurs avant la traite. Pour identifier les agents mycosiques présents pouvant contaminer la mamelle pendant la traite.

I.1.3.3. Ecouvillonnage des mains des trayeurs :

L'écouvillonnage des mains des trayeurs se fait par frottement des écouvillons contre la main droite et la main gauche des trayeurs avant et après la fin de la traite.

I.1.4. Méthodes d'évaluation de l'indice de propreté de l'étable : figure 10

L'état d'hygiène de l'environnement des animaux peut indirectement être évalué par le calcul de l'indice de propreté des animaux (HANZEN, 2009).



Zones anatomiques à considérer pour la notation de la propreté des animaux (1 à 4) et de l'étable (1 à 5).



Notes attribuées en fonction du niveau de salissure (exemple de la mamelle vue de côté).

État de propreté de la stabulation : moyenne des notes obtenues par toutes les vaches du troupeau (somme des notes attribuées à chaque zone).

Figure 10 : Barème de notation de l'état de propreté des bovins (Barret., 2005).

L'utilisation du barème de l'INRA est dans l'espèce bovine un excellent moyen d'apprécier cet état (Barret, 2005).

Stabulation très propre	0 - < 2
Stabulation propre	2 - < 4
Stabulation peu sale	4 - < 6
Stabulation sale	6 - < 8
Stabulation très sale	8-10

Tableau IV : la formule de notation de l'état de propreté des bovins (Barret, 2005).

Une note a été attribuée pour chaque vache à part et ensuite pour chaque exploitation en calculant la somme des notes attribuées pour l'ensemble des vaches dans chaque exploitation, divisée par le nombre de vaches.

L'évaluation de l'indice de propreté des animaux nous a permis d'évaluer l'état de propreté de l'étable.

I.1.5. Méthode d'évaluation de l'état de l'orifice du trayon (Teat end score) :

Au cours de l'examen spécial de la mamelle, on peut évaluer l'état de l'orifice du trayon en utilisant une table spéciale proposée par Mein et al., (2001), et présentée ci-dessous. (Tableau V)

Le but est d'estimer, en attribuant une note de 1 à 5, l'état de l'orifice du trayon pour chaque quartier.

D'après Kirk et Sischo, (2003), seuls les orifices du trayons avec les notes suivantes: (3), (4) et (5), peuvent être considérées comme un « facteur de risque », pouvant être à l'origine de l'augmentation de l'incidence des cas de mammite.



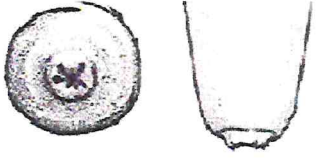

Notes	Description	Illustrations
Note 1 (N)	Absence de l'anneau L'orifice du trayon est lisse et bien ouvert. Cela correspond le plus souvent à la morphologie de l'orifice du trayon au début de la lactation.	
Note 2 (S)	Orifice lisse ou présence d'un anneau légèrement rugueux Un anneau apparent encercle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

Tableau V: Etat de l'orifice du trayon (Teat end condition score card) (MEIN et al., 2001).

II. ANALYSES MYCOLOGIQUES

L'examen mycologique des échantillons de lait comprend deux étapes :

- ✓ -Un examen direct des échantillons: à l'état frais et après coloration.
- ✓ -Un isolement puis identification des champignons et levures.

II.1. Examens direct

- Les échantillons sont décongelés à température ambiante. Les flacons sont laissés inclinés sur la paillasse (au lieu de centrifuger) à température ambiante. On obtient deux phases, un sédiment dense et un surnageant clair.

A l'aide d'une pipette pasteur, quelques gouttes du sédiment sont prélevées stérilement (près d'un bec bunzen), puis une goutte est déposée sur une lame contenant une goutte de bleu de lactophénol . Les lames sont observées au microscope optique au grossissement $\times 10$ et $\times 40$

- L'objectif de cet examen microscopique est la mise en évidence des éléments fongiques comme les mycéliums (forme pathogène des levures dans un organe).

II.1.1. Mise en culture : Repose sur les étapes suivantes :

II.1.1.1. Isolement

Les prélèvements sont ensemencés sur le milieu Sabouraud. L'ensemencement a été effectué conjointement à l'examen direct.

Pour chaque échantillon, une petite quantité du sédiment de lait est prélevée stérilement, à l'aide d'une pipette Pasteur jusqu'au bout évasé de la pipette, puis déposé dans une boîte de Pétri contenant de la gélose Sabouraud. Le sédiment est étalé stérilement sur toute la surface de la gélose à l'aide de la même pipette recourbée en râteau. Les boîtes de pétri sont incubées dans une étuve à 27°C pendant 24 à 48 h pour une première lecture et pendant 48 à 72 h pour une deuxième lecture.

II.1.1.2. Repiquage

Les colonies de champignons ayant poussé sont réensemencées sur la gélose Sabouraud puis les cultures sont incubées à 27°C pendant 24 à 48h. Le but de cette étape est de séparer les colonies pour pouvoir étudier leur aspect macroscopique et mettre en évidence les infestations mixtes.

II.1.2. Identification

L'identification du genre et de l'espèce des champignons est basée sur les caractères macroscopiques et microscopiques des colonies et par repiquage des colonies sur une galerie biochimique constituée de différents milieux de culture.

II.1.2.1. Caractères macroscopiques

C'est une première étape dans l'orientation du diagnostic mycologique. Elle est basée sur 4 critères : la forme, la couleur, le contour et l'aspect de la colonie.

L'observation des cultures obtenues a porté sur les 2 faces de chaque boîte de Pétri.

II.1.2.2. Caractères microscopiques

A partir des cultures obtenues, on enlève une colonie à l'aide d'une anse de platine, et l'avons mise entre lame et lamelle avec coloration au bleu de lactophénol. L'observation au microscope est effectuée au grossissement $\times 10$ et $\times 40$. Cette étape permet de déterminer la présence, l'abondance et la forme des champignons.

II.1.2.3. Caractères biochimiques

La galerie biochimique est constituée de 5 milieux de culture différents : Sabouraud, Sabouraud additionné d'Actidione, Urée indol, Sérum de bovins et le Rice cream.

❖ Milieu Sabouraud

Chaque colonie est réensemencée sur gélose Sabouraud puis incubée à 37°C pendant 24 à 48h.

❖ Test de sensibilité à l'Actidione

Chaque colonie est réensemencée sur gélose Sabouraud contenant un antibiotique : l'Actidione (cycloheximide). Les cultures sont incubées à 27°C pendant 24 à 48 h

❖ Test de Blastese

C'est le test de filamentation ou de germination dans du sérum de bovin. Les constituants du sérum favorisent la formation de filaments par certaines levures. Ce test permet de mettre en évidence les tubes germinatifs de *Candida albicans* après incubation dans du sérum. Du sang de bovin est récupéré au moment de la saignée des bovins, au niveau des abattoirs, dans des flacons en verre stériles puis transporté dans une glacière vers le

laboratoire de parasitologie. Le sang est reparti dans des tubes à hémolyse stériles puis centrifugé pour récupérer le sérum.

Pour le test de Blastese, on ensemence stérilement une colonie dans 1 ml de sérum de bovins frais. Après incubation de 3 à 4 h à 37°C, on dépose une goutte du sérum sur une lame et on observe au microscope optique (grossissement $\times 10$ et $\times 40$)

❖ Test d'Urée - Indol

Ce test permet de confirmer le diagnostic du genre *Cryptococcus* sur le milieu Urée-indol. Ces levures produisent une enzyme (uréase), capable de réduire l'urée. Cette réaction se traduit par le virement de la couleur de l'Urée-indol de l'orange au rose ou au violet. L'espèce *Cryptococcus neoformans* fait virer le milieu en moins de 4h.

Les autres espèces *Cryptococcus* et *Rhodotorula* nécessitent en moyenne 24h d'incubation. On prélève stérilement une colonie de levure ayant poussé sur la gélose Sabouraud à 27°C puis on l'ensemence dans 1ml d'Urée-indol. On homogénéise la suspension à l'aide d'un agitateur puis on incube à 37°C pendant 4h (1ère lecture) et 24h (2ème lecture).

La lecture de la galerie est facilitée grâce à l'emploi d'une table d'identification des levures, proposée par Drouchet et Dupont, (1985);

❖ Test du Rice cream

C'est un milieu de culture, à base de riz d'où l'appellation Rice cream, qui favorise la pseudofilamentation et la filamentation des levures notamment pour le genre *Candida*. Une pseudofilamentation et des chlamydospores terminales pour l'espèce *Candida albicans* et une vraie filamentation avec des arthrospores pour le genre *Trichosporon*.

On prend une colonie et on l'étale en stries sur le bord d'une boîte de Pétri contenant de la gélose Rice cream. On la couvre avec une lamelle pour créer un milieu d'anaérobiose. Après une incubation de 24 à 48h à 27°C, la boîte de Pétri est déposée sur le chariot du microscope. La partie recouverte de la lamelle est observée au microscope optique, au grossissement $\times 10$ et $\times 40$.

II.1.3. Détermination du genre et de l'espèce

Pour pouvoir déterminer le genre et l'espèce des champignons à partir des résultats obtenus, on se base sur le tableau comparatif inspiré du Guide de mycologie médicale

(Koenig, 1995) où figurent les caractères morphologiques et biochimiques des levures et moisissures d'intérêt médical.

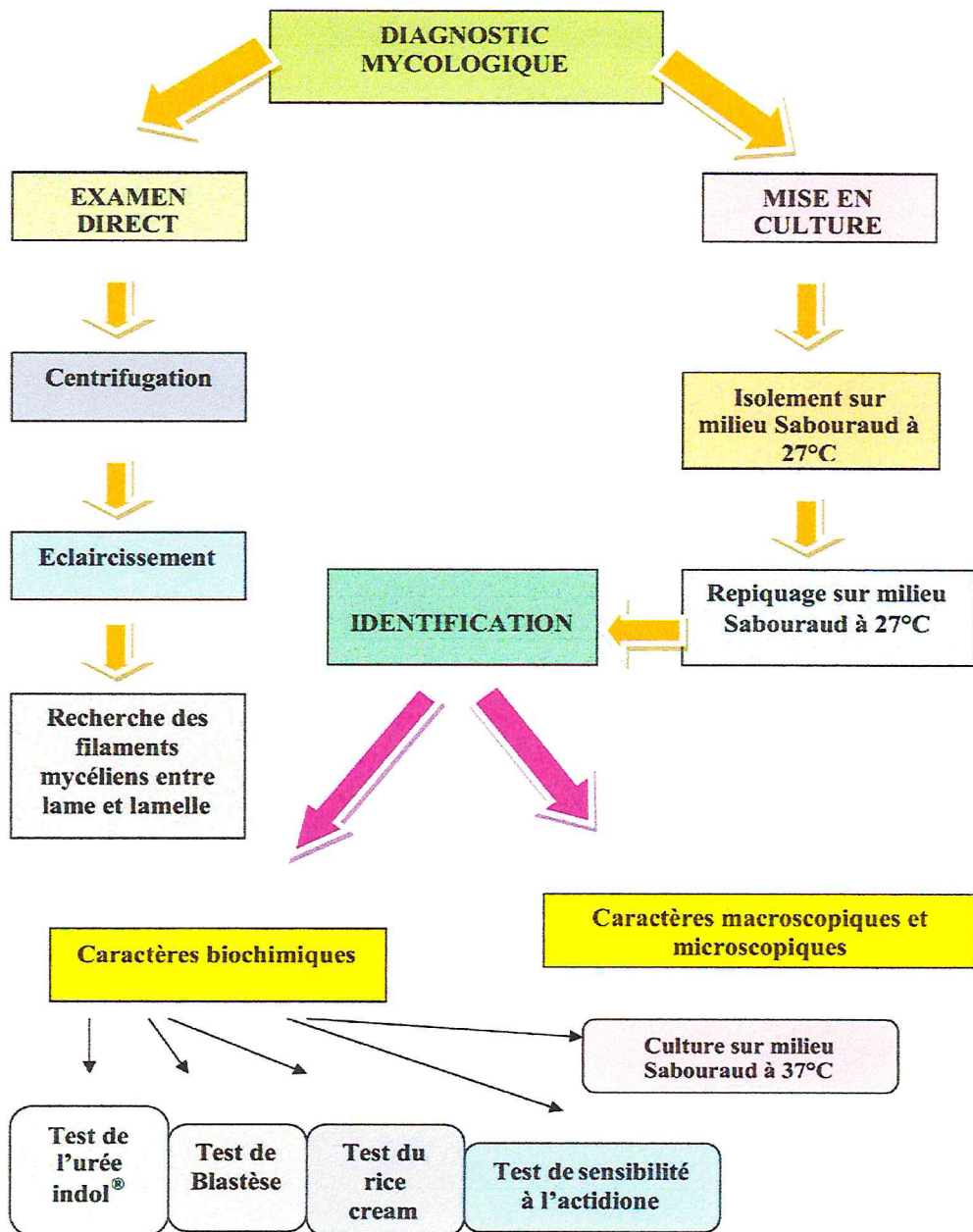


Figure 11 : protocole d'analyse mycologique du lait (Boubezari, 2010)

DISCUSSION

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS :

III.1. Effet d'amélioration des conditions d'hygiène sur la prévalence de la mammite fongique :

Selon Benbelkacem., 2010, (qui a fait une étude sur les mammites fongiques dans la région de Tiaret) au cours de l'étape 1, (avant l'amélioration des conditions d'hygiène), la prévalence de la mammite mycosique était de 30,59%. Et la répartition des champignons isolés à partir de nos échantillons de lait, par ordre décroissant est la suivante : *Rhodotorula sp.* 29,41 % des cas, *Cryptococcus sp.* 19,61% des cas, *Candida sp.* 13,72 % des cas *Torulopsis sp.* 11,76 % des cas, *Saccharomyces sp.* 7,84% des cas, *Geotrichum sp.* 7,84% des cas, *Mucor sp.* 5,88% des cas et *Trichosporon sp.* 3,92% des cas. Une prédominance des champignons appartenant au genre *Rhodotorula sp.* a été enregistrée, avec 29,41% des cas.

Cette répartition est différente de celles obtenues par Mebarki (2007), Rassoul,(2008) et Spanamberg et *al.*, (2008) qui ont constaté la prédominance du genre *Candida sp.* Selon Chengappa et *al.*, (1984), la plupart des espèces isolées à partir de lait de vache présentant des signes de mammite fongique appartiennent au genre *Candida sp.*

La différence des résultats explique bien l'intervention des facteurs dits « facteurs de risque » tel que l'environnement et la différence des régions dont les études sont faites.

Ksouri (2008) a aussi constaté la prédominance du genre *Candida sp.* dans le cas des prélèvements effectués à partir de quartiers des vaches atteintes de mammite clinique et une prédominance du genre *Aspergillus sp.* dans le cas des mammites subcliniques. D'après le même auteur, les facteurs dits « facteurs de risque » peuvent influencer la diversité de la population fongique ainsi que la sensibilité individuelle des vaches laitières, ce qui explique ces différences enregistrées d'une exploitation à une autre.

Au cours de l'étape 2, c'est-à-dire après l'amélioration des conditions d'hygiène, la prévalence des quartiers atteinte est de 11,93%. La répartition des champignons au cours de cette étape est la suivante : *Aspergillus sp.* avec 43,75% des cas, *Candida sp.* avec 18,75% des cas, *Cryptococcus sp.* avec 12,5% des cas, *Saccharomyces sp.* avec 12,5% des cas, *Trichosporon sp.* avec 6,25% des cas et *Rhodotorula sp.* avec 6,25% des cas. (Benbelkacem. 2010)

Selon cette répartition on a une prédominance du genre *Aspergillus sp*, avec 43,75% des cas; ce résultat est le même obtenu par Ksouri, (2008), qui a enregistré la prédominance du genre *Aspergillus sp*, dans le cas des mammites subcliniques.

La répartition des champignons isolés au cours de cette étape est différente de celle obtenue au cours de l'étape 1.

L'amélioration des conditions d'hygiène a permis de faire disparaître certains espèces et l'isolement d'autres espèces fongiques « nouvelles », non isolées au cours de l'étape 1.

La mammite due aux microorganismes d'origine environnementale ne peut être éradiquée mais peut être contrôlée par la réduction de l'exposition des animaux aux sources probables de ces microorganismes et par le renforcement des mécanismes de défense de l'animal (Smith et Hogan, 1993).

Cependant, vu que les mammites mycosiques sont caractérisées par une auto guérison, il est difficile d'évaluer avec exactitude l'effet de l'amélioration des conditions d'hygiène sur la prévalence de ce type de mammite. (Benbelkacem., 2010,)

III.2. L'étude des facteurs de risque :

III.2.1. Les sécrétions vaginales

Chengappa et *al.*, (1994) ont pu isoler *Candida sp.* et *Geotrichum sp.* à partir du tractus uro-génital des vaches. De même, Blonco et *al.*, (2008), ont décrit *Candida sp.* comme étant un agent commensale de la muqueuse vaginale (Hostetter, 199; Blonco et *al.*, 1994).

Ksouri (2008), a pu isoler *Rhodotorula rubra* et d'autres espèces fongiques à partir de la région périnéale. Kumar-Jand et Dhillon (1975) ont aussi isolé *Rhodotorula sp.* à partir d'échantillons vulvo-vaginales.

III.2.2. L'alimentation :

Elle joue un rôle non négligeable dans l'enrichissement du milieu, car selon Tabuc.,(2007), les aliments composés peuvent être contaminés par les spores qui étaient initialement présentes dans les céréales ou dans les autres ingrédients (oléagineux) qui entrent dans leur composition. Ils peuvent aussi être contaminés au cours du processus de fabrication ou pendant le stockage. Les espèces de moisissures les plus fréquemment retrouvées dans les aliments composés appartiennent aux mêmes genres que ceux contaminant les céréales : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*.

le rôle de contamination de la mamelle à partir des éléments fongiques présents dans l'aliment composé est à prouver car :

Selon Benbelkacem., 2010, seulement une seule espèce fongique : *Candida krusei* a été isolée simultanément à partir des prélèvements de lait et de l'aliment composé. De plus, la distribution des aliments est faite dans des mangeoires propres, situées à une hauteur adéquate, loin des sources de contamination fécale et de la litière.

Dans le cadre d'une enquête épidémiologique réalisée dans la région de Guelma (Algérie), Ksouri., (2008) a pu isoler les espèces suivantes à partir des drèches de brasserie : *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus niger*. Cependant, les espèces isolées des drèches de brasserie sont différentes de celles isolées du lait de mammite.

III.2.3. Les mains des trayeurs :

Benbelkacem., 2010, a pu isoler à partir des mains des trayeurs Les espèces suivantes: *Candida tropicalis* ; *Mucor sp* ; *Rhodotorula sp* ; *Trichosporon capitatum* et *Trichosporon cutaneum*.

La surface des mains est habituellement rugueuse et le plus souvent contaminée, cette contamination augment au cours de la traite (Henzen, 2009).

III.2.4. L'indice de propreté de l'animal :

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

Le même constat est fait par Schreiner et Rueg, (2003), qui ont confirmé la relation existante entre l'état de propreté de l'animal et le taux des infections mammaires subcliniques.

Selon Reneau et al., (2003), les exploitations les plus propres ont une moyenne en cellules somatiques inférieurs.

III.2.5. État de l'orifice du trayon :

Ce facteur est qualifié de « facteur de sensibilisation ». Seuls les trayons avec les notes : 3, 4 et 5 rendent la mamelle plus sensible et peuvent contribuer à l'augmentation de la prévalence des cas de mammites (Kirck et Sischo, 2003).

Selon Benbelkacem., 2010 les trayons porteurs de lésions se sont avérés plus sensibles aux infections mycosiques que les trayons ne portant pas de lésions qualifiés « à risque ».

Selon Neijenhuis et *al.*, (2001), pour les orifices des trayons porteurs de lésions qualifiés « à risque », la portion externe du canal du trayon ne se ferme pas étroitement et la pénétration des micro-organismes en nombre élevé est facilitée par cet effet.

Selon Fox et Cumming, (1996), il existe une corrélation significative entre l'état de l'orifice du trayon et la prévalence de la mammite subclinique ou la colonisation de la mamelle par les bactéries.

VI. Conclusion

D'après notre étude bibliographique, il faut savoir que la mammite est une pathologie d'origine multifactorielle qui résulte de l'interaction de plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques. C.à.d. leur particularité tient du fait que leurs formes épidémiologiques dépendent de l'intervention d'un ensemble de facteurs et de leurs combinaisons entre eux, plus que de l'agent causal. De plus, les mammites fongiques ayant la plus part du temps une tendance à l'autolimitation et à la guérison spontanée, ce sont d'autres facteurs d'intervention qui généralement assurent la persistance ou l'extension de l'affection.

La mammite fongique est encore peu connue par les vétérinaires praticiens. Elle est souvent sous estimée malgré les pertes considérables qu'elle peut engendrer d'une façon directe ou indirecte. Très peu d'études ont été réalisées dans notre pays et dont le but essentiel était d'évaluer l'incidence de la mammite mycosique et l'étude de quelques facteurs de risque.

Une étude plus détaillée de chaque facteur de risque à part et sur une période plus longue est intéressante et permet d'évaluer l'influence de chaque facteur sur la prévalence de ce type de mammite en fonction des facteurs climatiques, du stade physiologique des vaches et d'autres facteurs qui peuvent intervenir dans le déterminisme de ce type de mammite.

Il est intéressant d'étudier l'influence des infections bactériennes sur le développement et l'expression clinique de la mammite mycosique, et vice versa, pour essayer de comprendre les interactions entre les deux types d'infections.

RECOMMANDATION :

on peut dire que dans le cas des mammites mycosiques, en l'absence de thérapie spécifique, la prévention reste le seul moyen efficace permettant de réduire la prévalence des mammites mycosiques. L'exposition aux agents mycosiques et l'efficacité des mécanismes de défense sont les deux facteurs clés à prendre en considération lors de l'instauration d'un programme de lutte contre les mammites fongiques, pour cela on propose les recommandations suivantes :

Si on est devant un problème de mammite dans un cheptel laitier' on doit faire l'anamnèse suivante :

Un récent traitement antibiotique intra-mammaire suivi de l'apparition, de la persistance ou même de l'aggravation des signes cliniques, l'échec d'un tel traitement doit faire suspecter une infection fongique de la mamelle.

Améliorer les conditions de l'environnement :

- Lutter contre les conditions favorables au développement fongique (humidité, chaleur...)
- Lutter contre la présence des oiseaux dans l'étable surtout les pigeons car leur fientes sont des facteurs d'enrichissement du milieu en agents fongiques pathogènes (*cryptococcus néoformans*).
- Isoler les vaches diarrhéiques traitées aux antibiotiques, dont les selles peuvent être enrichies en levures (*candida*).
- Elimination des animaux qui souffrent de mammites a répétition et toute autre forme de chronicité,

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

A

Ali R., Khan H., 2006. Mycotic abortion in cattle. *Pak. Vet. J.*, 26(1), 44-46.

Afssa, 2006, Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport synthétique.

B

Barret J.P., 2005. Zootechnie générale. Editions TEC et DOC, LAVOISIER, Paris, deuxième édition, page 40.

Bareille N, Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F, Malher X. 1998. Survenue et expression des mammites cliniques et subcliniques en troupeaux bovins laitiers: facteurs de risque liés à la conception et à l'utilisation du bâtiment. 5^{ème} Ren. Rech. Ruminants, 3-4 décembre 1998: 297-300.

Barnouin J, Fayet JC, Brochart M. 1993. Enquête écopathologique continue : 1. Hiérarchisation de la pathologie observée en élevage bovin laitier. *Ann. Rech.*, 14: 247-252.

Bidaud O, Houffschmitt P, Viguerie Y. Étiologie des mammites bovines en France entre 2005-2007. Journées bovines nantaises, 2007 : 121-122

Blanfort V., Hassoun P., Mandret G., Paillat J.M., Tillard E., 2000. In CIRAD, INRA (Editor), L'élevage bovin à la Réunion: Synthèse de quinze ans de recherche. Paris, France. 323-355 .

Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P., (1990), Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Ed. Masson, Paris

Boubezari M.T., 2010 contribution à l'étude des caractéristiques physicochimiques et mycologiques du lait chez quelques races bovines, ovines et caprines dans quelques élevages de la région de Jijel

Blonco J.L., Garcia M.E., 2008. Immune response to fungal infections. *Veterinary immunology and immunopathology*, 125, 47-70.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Benbelkacem Idir, 2010. Contribution a l'étude des mammites fongiques des bovins dans deux élevages de la région de tiaret (These magister)

Bennett J.W., Klich M., (2003), Mycotoxins, Clin. Microbiol. Rev., 16, 497-516.

D

Dwight C.H., Zee Y.C., 1999. Veterinary microbiology. Ed. Blackwell Science. 463pages.

Dismukes W.E., Pappas P.G., Sobel J.D., 2003. Clinical mycology. Oxford University Press, 416-419.

C

Castegnaro M., Pfohl-Leszkowicz A., (2002), Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans La sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier, Tec&Doc

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

Chahota R., Katoch R., Mahajan A., Verma S., 2001. Clinical bovine mastitis caused by *Geotrichum candidum*. VETERINATRSKY ARHIV 71 (4), 197-201.

Chengappa M.M., Maddux R.L., Greer S. C., Pincus D.H., Geist L.L., 1984. Isolation and identification of yeasts and yeastlike organisms from clinical veterinary sources. Journal of clinical microbiology; Mars;427-428.

Coube J., 1997. Avortements et mammites mycosiques des bovins : étude bibliographique des connaissances actuelles. The. Doc. Vét. ENV Nantes., 35 : 310-317.

Costa, J. M., O. Eloy, F. Botterel, G. Janbon and S. Bretagne (2005). "Use of microsatellite markers and gene dosage to quantify gene copy numbers in *Candida albicans*." J Clin Microbiol 43(3): 1387-9.

F

Federici-Mathieu C., Godin M., 2002. La machine à traire : fonctionnement, incidence sur la santé des mamelles. Journées Nationales des GTV, Tours 2002, 369-392.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Fortier G., 1990. Mammites mycosiques des bovins, flore fongique du lait, pathogénie et moyen de lutte. Th. Méd. Vet. Alfort, 145 pages.

Faroult B, Lepage P. Quels prélèvements de lait pour le diagnostic bactériologique des mammites bovines. Bulletin des G.T.V., 2006, 33: 24-30.

Fox L.K., Cumming M.S., 1996; cités par Neijenhuis F., Mein J.A., Britt J.S., Reinemann D.J., Hillerton J.E., Farnsworth R., Baines J.R., Hemling T., Ohnstad I., Cook N.B., Morgan W.F., 2001. Relationship between teat-end callosity or hyperkeratosis and mastitis. Paper presented at the proceedings, AABPNMC international symposium on mastitis and milk quality, Vancouver, BC, Canada, 6 pages

G

Gedilaghine V. La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière. Conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action G.T.V. Partenaire dans le département de la Manche. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Maisons Alfort 2005, 106 p.

Garcia, M.E., Caballero, J., Cruzado, M., Andrino, M., Gonzalez- Cabo, J.F., Blanco, J.L., 2001b; cités par Blanco J.L., Garcia M.E., 2008. Immune response to fungal infections. Veterinary immunology and immunopathology, 125, 47-70.

Garcia-Hermoso, D., F. Dromer and G. Janbon (2004). "Cryptococcus neoformans capsule structure evolution in vitro and during murine infection." Infect Immun 72(6): 3359-65.

H

Hogan J.S., Smith K.L., - Coliform mastitis. Vet. Res. 2003; 34(5):507-19.

Hanzen C.H., 2009. Pathologie infectieuse de la glande mammaire. Approche individuelle. Année 2009-2010 ; 63 pages.

Hanzen C.H., 2000. Pathologies de la glande mammaire de la vache laitière. Aspect Individuel et d'élevage ; 5ème édition.

Hanzen C.H., 2007. Pathologie infectieuse de la glande mammaire. Approche individuelle. Année 2007-2008 ; 29 pages.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Heuchel, V ; Marly, J Origines, diagnostic et moyens de maîtrise de la contamination du lait de vache par les salmonelles, 2001. Institut de l'élevage, Paris, France

Hugan W.A., Burner D.W, Timoney J.F., 1988. Hugan and Burner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. Cornell University Press Edition, Eighth edition. 416-419.

I

I.A.R.C.(1993), Some naturally occurring substances, food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins, In Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human, World Health Organization, Lyon, France

J

Jaglelski T., Lagneau P.E., 2007. Protothecosis. A pseudofungal infection. J. Mycol. Med., 17, 261-70

Jean Duval., 2008 cité par Abdelatif Bensalah., 2010 dans Contribution à l'évaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique de lait cru et diagnostique de brucellose et mammites dans la région de Tlemcen en Algérie

K

Ksouri s., 2008. Contribution à l'étude des mammites fongiques des bovins dans deux élevages laitiers de la région de Guelma. Th. Mag. Med. Vet. El Taref, 184 pages

Kirk J.H., Sischo W.M., 2003. Case report- An investigation of dairy cow teat lesions and clinical mastitis. The bovine practitioner. Vol. 37, N°1, 30-34.

Koenig H., 1995. Guide de mycologie médicale. Ellipses Edition, 96 pages

Kossaibati MA, Hovi M, Esslemont R.J.1998. Incidence of clinical mastitis in dairy herds in England. Vet. Rec., 143 : 649-653

Koutchoukali MA. 1980. Les mammites bovines dans la daïra de Constantine. Dépistage et bactériologie. Mémoire de Doctorat Vétérinaire, Université Constantine, 41 p.

Kumar-jand S., Dhillon S. S., 1975. Mastitis caused by fungi. Indian. Vet. J. 52 (3), 125-128.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

L

Lassa H., Malinowski E., 2007. Resistance of yeasts and algae isolated from cow mastitic milk to antimicrobial agents. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 51, 575-578.

Lee CS, Wooding FBP, Kemp P. 2004 . Identification, properties and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cows secretions, colostrum and milk from normal cows. *J. Dairy Res.*, 47:39-50.

Lopes M.M., Ribeiro R., Carvalho D., Freitas G., 2008. In vitro susceptibility of *Prototheca* spp. isolated from bovine mastitis in a Portugal dairy herd. *Journal de mycology medicale*, N°18, 205-209

Lagneau P. E., 2004 ; cité par KSOURI S., 2008. Contribution à l'étude des mammites fongiques des bovins dans deux élevages laitiers de la région de Guelma. *Th. Mag. Med. Vet. El Taref*, 184 pages.

Lagneau P. E., Lebtahi K., Swinne D., 1996. Isolation of yeasts from bovine milk in Belgium. *Mycopathologia*, 135: 99-102.

Lopez-Diaz T.M., Santos J.A., Garcia-Lopez M.L., Otero A.,(2001), Surface mycoflora of a Spanish fermented meat sausage and toxigenity of *Penicillium* isolates, *Int.J., Food Microbiol.*, 68, 69-74

M

Marcel Mazyoyer ,2007 cité par Abdelatif Bensalah., 2010, dans Contribution à l'évaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique de lait cru et diagnostique de brucellose et mammites dans la région de Tlemcen en Algérie

Morin O., (1994), *Aspergillus et aspergilloses: biologie*, Ed. Techniques Encycl. Med. Chir. (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses 8-600-A-10

Mein G.A, Neijenhuis G., Morgan W.F, 2001. Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds : 1. Non infectious factors. *Proc. second international symposium on mastitis and milk quality. Vancouver, BC, Canada*, 347-351.

Mebarki M., 2007. Contribution à l'étude des mammites mycosiques dans quelques élevages laitiers de la région d'Alger. *Th. Mag. Sci. Vét. Ecole nationale vétérinaire, Alger*, 165 pages.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

N

Niar A, Ghazy K, Dahache SY. 2000. Incidence des mammites sur les différents élevages bovins de la wilaya de Tiaret. 4^{ème} Séminaire International de Médecine Vétérinaire Constantine 21-22 novembre 2000.

P

Pengov A., 2002.Prevalence of mycotic mastitis in cows. Acta Veterinaria (Beograd). Vol. 52, No. 2-3, 133-136.

Perez V., Copra J. M., Garcia Marin J.F., Aduriz J.J., Jensen H.E., 1998.NATURAL DISEASE: Mammary and systemic Aspergillosis in dairy sheep. Vet. Pathol. 35, 235-240.

Piere Levesque, juillet, aout 2006, la classification des mammites, le producteur du lait québécois, page 30.

Pitt J.I.,(2000), Toxigenic fungiand mycotoxins, Br. Med. Bull., 56 (1), 184 - 192.

Q

Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J., Leonard F.C., 2002. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Ed. Wiley-Blackwell, 504 pages.

R

Raper K., Fennell D.J.,(1965), The genus Aspergillus”, Williams and Wilkins editors, Baltimore

Roquebert M.F.,(1998), Taxonomie des moisissures ; Méthodes de culture et techniques d’observation ; Identification”, in “Moisissures des aliments peu hydratés”, Ed. Tec & Doc, 39-95

Romani L., 2004; cité par BLONCO J.L., GARCIA M.E., 2008.Immune response to fungal infections. Veterinary immunology and immunopathology, 125, 47-70.

Rassoul M., 2008.Etude préliminaire des mammites bovines d’origine fongique au niveau de la wilaya d’Alger, subdivisions agricoles deBirtoutaet Birkhadem.Memoire Doc.Vet. Ecole nationale vétérinaire. Alger, 100pages.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Radostits O.M., Blood D.C., Gay C.C., 1994. Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. HARDCOVER-OLDER EDITION. Edition, N°8, 1763 pages.

Reneau J. K., Seykora A. J., Heins B. J., 2003. Relationship of cow hygiene scores and SCC. in Proc. Natl. Mast. Coun., Madison, WI. 362-363.

S

Sharif A., Muhammad G., 2009. Mastitis control in dairy animals. Pak. Vet J., 29 (3), 145-148.

Spanamberg A., Wunder Jr.E.A, Pereira D.I.B., Argenta J., Sanches E.M.C., Valente P., Ferreiro L., 2008. Diversity of yeasts from bovine mastitis in Southern Brazil. Rev. Iberoam. Micol. 25, 154-156

Sanchez A.G., Perez J.R., Carillo-Munoz A.J., Anaya M.C.G., Mendoza J.H., Rodriguez J.M.A. 1996; cités par **LASSA H., MALINOWSKI E.**, 2007. Resistance of yeasts and algae isolated from cow mastitic milk to antimicrobial agents. Bull. Vet. Inst. Pulawy, 51, 575-578.

Smith K.L, Hogan J.S, 1993; cités par **SHARIF A., MUHAMMAD G.**, 2009. Mastitis control in dairy animals. Pak. Vet J., 29 (3), 145-148.

Schreiner D.A., Rueg P.L., 2003. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. J. Dairy Sci. Vol. 86, No. 11, 3460-3465

N

Neijenhuis F., Mein J.A., Britt J.S., Reinemann D.J., Hillerton J.E., Farnsworth R., Baines J.R., Hemling T., Ohnstad I., Cook N.B., Morgan W.F., 2001. Relationship between teat-end callosity or hyperkeratosis and mastitis. Paper presented at the proceedings, AABP-NMC international symposium on mastitis and milk quality, Vancouver, BC, Canada, 6 pages.

T

Tabuc C., 2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Th. Doc. Institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest, 190 pages.

ANNEXES



Photo1 : Les prélèvements de lait pour examen mycologique (Benbelkacem., 2010)



Photo 2 : Les écouvillons (Benbelkacem., 2010)



Photo 3 : Aspect macroscopique des colonies levuriformes sur milieu Sabouraud/Chloramphénicol (Benbelkacem., 2010)

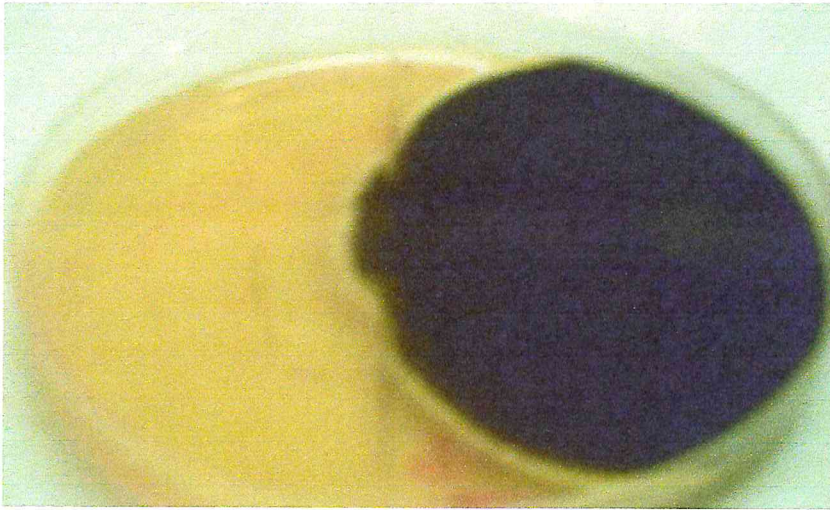


Photo 4 : *Aspergillus niger* sur milieu Sabouraud. (Alkebissi., 2008)

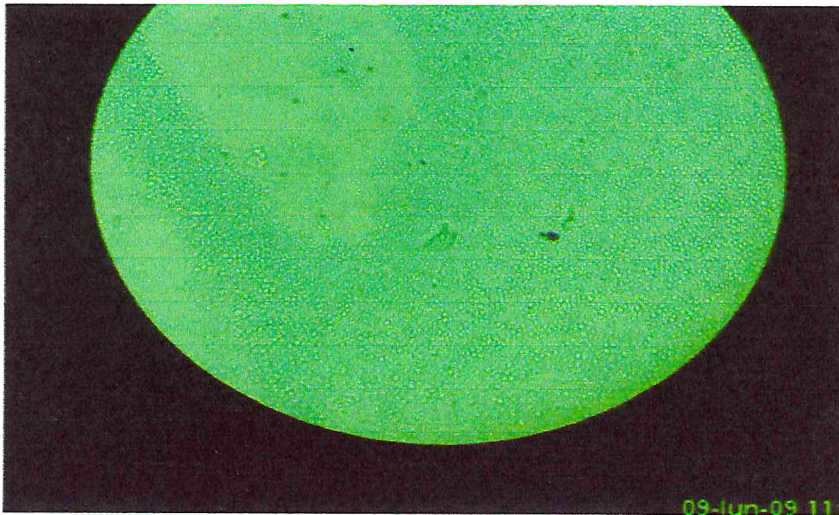


Photo 5 : Aspect microscopique de *Rhodotorula rubra* colorée au bleu de Lactophénol.



Photo 6 : Evaluation de l'état de l'orifice du trayon. (Benbelkacem., 2010)

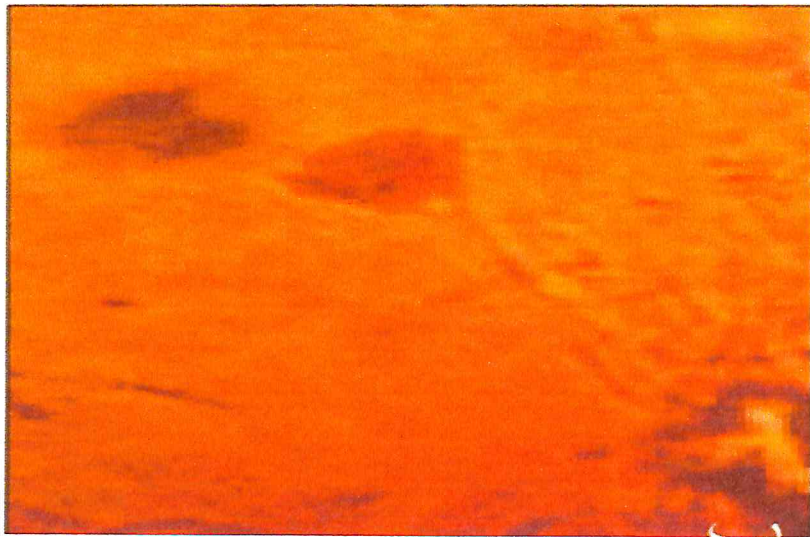


Photo 7 : penicillium spp sous microscope (X40) (Alkebissi., 2008)

Germes de mammites	Aspect colonie sur gélose au sang	Catalase	Gram	Forme microscopique	Mobilité	Oxydase	Hémolyse	Rapidité de culture
<i>E. coli</i>	Blanche brillante large odeur de litière humide et sale	Légèrement + ou -	-	Bâtonnets bien rangés	Oui ou non	-	Parfois	6 à 12 h
<i>Klebsiella</i>	Transparentes mucoside collante	-	-	Coccobacilles	Non	-	Non	En 12 h
<i>Serratia</i>	Colonies parfois roses	+	-	Cocci par 2 capsulés	Oui	-	Non	En 24 h
<i>Pasteurella Mannheimia</i>	Petite colonie grise multocida souvent mucoside	+	-	Coccobacilles capsulés à coloration bipolaire	Non	+	Seul β hémolyse	24 à 48 h
Entérobactéries aérogènes	Grises mucosides	+	-	Bacilles	Oui	-	Non	24 h
<i>Pseudomona</i>	Large, irrégulière, centre noir transparent parfois bleu-vert avec aérogenosa	+	-	Bacilles	Oui	+	Non	24 h
<i>Salmonella</i>	Grise brillante	-	-	Bacilles	Oui	-	Non	24 à 48 h
<i>Candida</i>	Colonie blanche	+ ou -	+ ou -	Forme de prune quetsche, très gros, bactérie	Non		Non	12 à 24 h
<i>Trichosporon</i>	Colonie blanche puis mucoside jaunâtre		+	Mycélium	Non		Non	12 à 24 h
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Blanche puis duveteuse verte		+	Hyphes et conidies	Non		Non	2 à 3 jours

Tableau I : Caractères microbiologiques des germes responsables des mammites chez les bovins [d'après Bidaud O, Houffschmitt P, Viguerie Y. 2007]

<i>Prototheca</i> algue	Petite colonie grise ou blanche			Sporange à 4-8 cellulales			Non	48 à 72 h
<i>Nocardia</i>	Colonie blanche, sèche, adhérente à la gélose	+	+	Spore et filament bâtonnet et cocci			Non	48 h
Mycoplasme	Colonie incrustée dans la gélose en forme d'œuf sur le plat (S3)	45		Aucune paroi			Légère	Plusieurs jours mieux si milieu à 10 % de CO ₂
<i>Staph. aureus</i>	Grosse colonie gris-blanc ou jaune, odeur de pied	+ Forte	+	Coque en grappe de taille moyenne		-	Souvent double avec α et β	24 à 48 h
<i>Staph. inter-medius</i>	Grosse colonie blanche crème	+	+	Coque en grappe de taille moyenne		-	Hémolyse simple	24 h coagulation +
Autres <i>Staph.</i>	Grosse colonie blanche crème	+	+	Coque en grappe de taille moyenne		-	Pas d'hémolyse	24 h coagulation +
<i>Suberis</i>	Petite colonie blanche	-	+	Coque en courte chaînette		-	α hémolyse ou pas	24 à 48 h
<i>Sagalactia</i>	Petite colonie translucide	-	+	Coque en courte chaînette		-	β hémolyse	24 à 48 h
<i>Sdyagalactia</i>	Petite et blanche	-	+	Coque en courte chaînette		-	α hémolyse verdâtre ou non	24 à 48 h
<i>Listeria monocytogenes</i>	Petite colonie sèche, transparente, à bord smooth	+	+	Petit bacille ou coque si culture jeune		-	Légère	24 à 48 h
<i>Corynebacterium bovis</i>	Petite colonie blanche, sèche	+	+	Bâtonnet à bout enflé en V		-	Légère β hémolyse	48 h
<i>Arcanobacterium pyrogenes</i>	Petite colonie translucide et sèche	+	-	Bacille, coque et filament		-	Zone étroite d'hémolyse α	48 h mieux si milieu à 10 % de CO ₂

Tableau I (suite) : Caractères microbiologiques des germes responsables des mammies chez les bovins [d'après Bidaud O, Houffschmitt P, Viguier Y.2007]