

UNIVERSITE DE BLIDA 1
Institut des sciences vétérinaires

THESE DE DOCTORAT

en Sciences Vétérinaires

Spécialité : Microbiologie médicale des maladies zoonotiques

PLACE DES *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DANS L'ETIOLOGIE
DES MAMMITES CLINIQUE ET SUB-CLINIQUE CHEZ LES
VACHESLAITIERES DANS LA REGION DE BLIDA ET MEDEA

Par

Nabila BOUKHALFA

Devant le jury composé de :

D. KEBOUR	Professeur	Université de Blida 1	Présidente
R. SAIDI	Professeur	Université de Laghouat	Examineur
N. LOUNES	MCA	ENSV d'Alger	Examinatrice
A. YAHIA	MCA	Université de Blida 1	Examineur
A. HAKEM	Professeur	Centre de recherche en agropastoralisme, Djelfa	Promoteur
A. BERBER	Professeur	Université de Blida 1	Co-promoteur

Blida, Mars 2023

RESUME

La mammite de vache laitière est une maladie qui a un impact important sur le bien-être de l'animal et la qualité du lait. Dans l'objectif d'évaluer la prévalence des mammites cliniques et sub-cliniques, identifier les facteurs de risque associés, déterminer le taux des mammites causées par *Staphylococcus aureus* et la sensibilité de ce dernier aux différents antibiotiques, une étude a été réalisée dans deux wilayas Médéa et Blida dans la période étalée de novembre 2018 à septembre 2019. Au total, 224 vaches laitières issues de 28 fermes ont été testées par le California mastitis test (CMT) pour les mammites sub-cliniques et par examen symptomatologique pour les mammites cliniques. Les échantillons positifs ont été soumis à des analyses de laboratoire (isolement et identification de *S. aureus* sur gélose au sang du mouton, coloration de Gram, test catalase, test coagulase et antibiogramme). Les résultats ont montré une prévalence de 3,57% et 47,32 % pour les mammites clinique et sub-cliniques respectivement. L'hygiène du pis et des pattes, la parité et le stade de lactation sont les principaux facteurs de risques favorisant l'apparition des mammites. *Staphylocoque aureus* a été isolé dans 12,5 % des cas de mammite clinique et 24,52 % des mammites sub-cliniques. L'antibiogramme a révélé une forte résistance à la pénicilline G (66,6%). Tétracycline (29,62%), érythromycine (18,51%), triméthoprim + sulfaméthoxazole (14,81%), enrofloxacin (11,11 %), oxacilline (7,4 %) et amoxicilline/acide clavulanique (3,7 %). Ces résultats mettent en évidence la nécessité d'améliorer les mesures de lutte contre les mammites des vaches laitières et le besoin de soutenir l'utilisation responsable des antibiotiques.

Mot clés : vache laitière, mammite, *Staphylocoque aureus*, antibiogramme, facteurs de risque.

ملخص

التهاب الضرع عند البقرة الحلوب مرض له تأثير كبير على رفاهية الحيوان و جودة الحليب. بهدف تقييم مدى انتشار التهاب الضرع السريري وتحت السريري ، وتحديد عوامل الخطر المرتبطة به ، بالإضافة الى تقييم معدل التهاب الضرع الذي تسببه المكورات العنقودية الذهبية وحساسية هذه الاخيرة للمضادات الحيوية المختلفة، أجريت دراسة في ولايتي المدية والبليدة في الفترة الممتدة ما بين نوفمبر 2018 وسبتمبر 2019. تم اختبار 224 بقرة حلوب من 28 مزرعة بواسطة اختبار التهاب الضرع (CMT) للكشف عن التهاب الضرع تحت السريري وبالاعتماد على الاعراض لتشخيص حالات التهاب الضرع السريري. تم تقديم عينات إيجابية للتحليل المخبري (عزل وتحديد المكورات العنقودية الذهبية على أجار مكمل بدم الغنم ، تحليل صبغة غرام، اختبار الكاتالاز ، اختبار تجلط الدم واختبار حساسية المضادات الحيوية). أظهرت النتائج انتشار التهاب الضرع السريري وتحت السريري بنسبة 3.57% و 47.32% على التوالي. يبدو ان نظافة الضرع والساق ومرحلة الرضاعة علاقة معنوية مع التهاب الضرع تحت السريري. تم عزل المكورات العنقودية الذهبية في 12.5% من حالات التهاب الضرع السريري و 24.52% من حالات التهاب الضرع تحت السريري. اظهرت دراسة حساسية المكورات العنقودية الذهبية للمضادات الحيوية مقاومة قوية للبنسلين (66.6%)، تتراسيكلين (29.62%)، إريثروميسين (18.51%)، تريموثوبريم + سلفاميثوكسازول (14.81%)، إينزوفلوكساسين (11.11%) ، أوكساسيلين (7.4%) ، أموكسيسيلين / حمض الكلافولانيك (3.7%). تسلط هذه النتائج الضوء على الحاجة إلى تحسين إجراءات مكافحة التهاب الضرع عند الأبقار الحلوب والحاجة إلى دعم الاستخدام المسؤول للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: بقرة حلوب ، التهاب الضرع ، المكورات العنقودية الذهبية ، المضاد الحيوي ، عوامل الخطر.

ABSTRACT

Dairy cow mastitis is a disease that has a significant impact on animal welfare and milk quality. With the aim of evaluating the prevalence of clinical and subclinical mastitis, identifying the associated risk factors, determining the rate of mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and its sensitivity to different antibiotics, a study was carried out in two provinces Médéa and Blida in the period from November 2018 to September 2019. In total, 224 dairy cows from 28 farms were tested by the California mastitis test (CMT) for sub-clinical mastitis and by symptomatological examination for clinical mastitis. The positive samples were subjected to laboratory analyzes (isolation and identification of *S. aureus* on sheep's blood agar, Gram staining, catalase test, coagulase test and antibiogram). The results showed a prevalence of 3.57% and 47.32% for clinical and sub-clinical mastitis respectively. Hygiene of the udder and legs, parity and stage of lactation are the main risk factors favoring the appearance of mastitis. *Staphylococcus aureus* was isolated in 12.5% of cases of clinical mastitis and 24.52% of sub-clinical mastitis. The antibiogram revealed a strong resistance to penicillin G (66.6%). Tetracycline (29.62%), erythromycin (18.51%), trimethoprim + sulfamethoxazole (14.81%), enrofloxacin (11.11%), oxacillin (7.4%) and amoxicillin/clavulanic acid (3.7 %). These results highlight the need to improve mastitis control measures in dairy cows and the need to support responsible use of antibiotics.

Key words: dairy cow, mastitis, *Staphylococcus aureus*, antibiogram, risk factors.

REMERCIEMENTS

En préambule à cette thèse, je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leurs aides et qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

A Madame KEBOUR D.

Professeur à l'Université BLIDA 1,

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

Qu'elle trouve ici l'expression de nos vifs remerciements.

A Monsieur SAIDI R.

Professeur à l'université de Laghouat,

Qui m'a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A Madame LOUNES N.

Maitre de conférences à l'ENSV d'Alger,

Qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être membre de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A Monsieur YAHIA A.

Maitre de conférences à l'Université BLIDA 1,

Qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être membre de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A Monsieur HAKEM A.

Professeur, Centre de recherche en agropastoralisme,
Djelfa, Qui a accepté d'être mon directeur de
thèse.

Pour m'avoir procuré du courage et donné de la confiance en soi,
pour sa gentillesse et sa modestie, son soutien illimité et son savoir-
faire.

Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde estime.

A Monsieur BERBER A.

Professeur à l'Université

BLIDA 1,

Qui a accepté d'être mon co-directeur de thèse. Pour son implication
dans ma thèse, sa gentillesse et son professionnalisme. Qu'il trouve ici
le témoignage de notre sincère reconnaissance.

Mes remerciements vont aussi à toutes les personnes qui ont contribué de
près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENT	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	16
1. RAPPEL SUR L'ANATOMIE ET L'IMMUNITE DE LA MAMELLE DES VACHES	18
1.1. Anatomie de la mamelle des vaches	18
1.2. Immunité de la mamelle des vaches.	20
1.2.1. Les barrières mécaniques	20
1.2.2. Immunité non spécifique.	21
1.2.3. Immunité spécifique.	21
2. RAPPEL SUR LES MAMMITES BOVINES	22
2.1. Définition	22
2.2. Pathogénicité	22
2.3. Pertes économiques engendrées lors des mammites	24
2.4. Description et symptômes	25
2.4.1. Mammites cliniques	25
2.4.1.1. Mammites suraiguës	25
2.4.1.2. Mammite aigues	26
2.4.1.3. Mammites chroniques	26
2.4.2. Mammites sub-cliniques	26
2.5. Etiologie des mammites	26
2.5.1. Facteurs favorisants	27
2.5.1.1. Facteurs liés à l'animal	27
2.5.1.1.1 L'hérédité	27
2.5.1.1.2.Le stade de lactation	27

2.5.1.1.3. Le numéro de lactation	28
2.5.1.2. Facteurs liés à l'environnement	28
2.5.1.3. Facteurs liés à la traite	29
2.5.2. Facteurs déterminants	30
2.5.2.1. Les bactéries	30
2.5.2.1.1. Les entérobactéries	30
2.5.2.1.2. Les staphylocoques	31
2.5.2.1.3. Les streptocoques	32
2.5.2.1.4. Les mycoplasmes	33
2.5.2.1.5. Autres agents pathogènes	33
2.5.2.2.1. <i>Arcanobacterium pyogenes</i>	33
2.5.2.2.2. Les contaminants du lait	34
2.5.2.2.3. Virus	34
2.5.2.2.4. Levures et algues	34
2.6. Modèle épidémiologique des pathogènes impliqués dans les mammites	35
2.6.1. Modèle mammaire ou modèle contagieux	35
2.6.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	36
2.6.1.2. <i>Streptococcus agalactiae</i>	36
2.6.1.3. <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	36
2.6.2. Modèle environnemental	37
2.6.3. Modèle mixte	37
3. RAPPEL SUR LES STAPHYLOCOQUES	39
3.1. Historique	39
3.2. Taxonomie	39
3.3. Biologie	40
3.3.1. Caractères bactériologiques et biochimiques	40

3.3.2. Facteur de virulence	41
3.3.2.1. Les constituants de la paroi	42
3.3.2.2. Les enzymes	42
3.3.2.3. Les toxines	42
3.3.3. Pouvoir pathogène	44
4. EPIDEMIOLOGIE DES MAMMITES CAUSEES PAR <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> CHEZ LES ESPECES BOVINE	47
4.1. Rappel sur les mammites à <i>S. aureus</i> chez les vaches	47
4.2. La pathogénie des mammites à <i>S. aureus</i>	47
4.3. La réponse immunitaire à <i>S. aureus</i> dans la glande mammaire	48
4.4. Epidémiologie	49
4.4.1. Répartition géographique et prévalence	49
4.4.2. Source de l'agent pathogène et mode de transmission	50
4.4.3. La formation de biofilm et le passage à la chronicité	50
4.5. Diagnostic des mammites causées par <i>S. aureus</i>	51
4.5.1. Diagnostic des mammites cliniques	51
4.5.2. Diagnostic des mammites sub-cliniques	51
4.5.2.1. Le test CMT : california Mastitis test	51
4.5.2.2. Le comptage des cellules somatiques (CCS)	52
4.5.2.3. Le Taux Cellulaire du Tank (TCT)	52
4.5.3. Diagnostic de laboratoire	52
5. TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE	54
5.1. Traitement	54
5.1.1. Période de traitement	54
5.1.1.1. Traitement en période de tarissement	54
5.1.1.2. Traitement en période de lactation	54

5.1.2. Choix de la voie d'administration	55
5.1.2.1. La voie générale injectable	55
5.1.2.2. La voie locale intramammaire	56
5.1.2.3. Utilisation simultanée de la voie intramammaire et de la voie injectable.	57
5.1.3. Mécanisme de résistances développées par <i>S. aureus</i> vis-à-vis des différentes classes d'antibiotiques	57
5.1.3.1. Les bêta-lactamines	58
5.1.3.2. La méthicilline	59
5.1.3.3. Les Aminoglycosides	59
5.1.3.4. Les tétracyclines	60
5.1.3.5. Les macrolides et lincosamides	60
5.2. Prophylaxie	60
5.2.1. Hygiène de traite	62
5.2.1.1. Hygiène avant la traite et préparation de la mamelle	62
5.2.1.2. Hygiène après traite	62
5.2.2. Hygiène de lieu de traite et du trayeur	64
5.2.3. La vaccination	67
5.2.3.1. Vaccination contre la bactérie entière	67
5.2.3.1.1. Vaccins atténués	68
5.2.3.1.2. Vaccin inactivés	68
6. PARTIE EXPERIMENTALE	70
6.1. Problématique	70

6.2. Objectifs	71
6.3. Matériels et méthode	71
6.3.1. La région d'étude	71
6.3.2. Echantillonnage	72
6.3.3. Questionnaire	72
6.3.4. Prélèvement	73
6.3.5. Analyse de laboratoire	75
6.3.5.1. Isolement et identification des <i>S. aureus</i>	75
6.3.5.2. L'antibiogramme des <i>S. aureus</i>	75
6.3.6. Enquete par questionnaire	77
6.3.7. Analyses statistiques	77
6.4. Résultats	78
6.4.1. Prévalence des mammites	78
6.4.2. Facteurs de risque de mammite	79
6.4.3. Résultats des analyses statistiques des facteurs de risque	84
6.4.4. Prévalence des mammites causées par <i>S. aureus</i>	86
6.4.5. Sensibilité des <i>S. aureus</i> aux antibiotiques	89
6.5. Discussion	89
CONCLUSION	94
PERSPECTIVES	95
RECOMMENDATION	96
APPENDICES	97
REFFERENCES	102

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1	Anatomie de la mamelle de la vache.	19
Figure 1.2	Anatomie du trayon	20
Figure 2.1	Schéma représentatif du développement d'une mammite dans une mamelle infectée	24
Figure 2.2	mammite suraiguë	25
Figure 2.3	Schéma représentatif de l'incidence des nouvelles infections mammaires selon le stade de lactation	28
Figure 2.4	Escherichia coli	31
Figure 2.5	Observation d'un biofilm de <i>S. aureus</i> sous microscope électronique à balayage Gx34000	32
Figure 2.6	<i>Streptococcus agalactiae</i>	33
Figure 2.7	Fréquence des germes isolés de cas de mammite subcliniques (Algérie).	35
Figure 2.8	Répartition des isolats inhabituels en culture sur prélèvements de lait	35
Figure 4.1	Représentation schématique du processus de formation d'un biofilm	51
Figure 5.1	Injection intramammaire	57
Figure 5.2	Induction de la synthèse des bêta-lactamases chez les <i>S. aureus</i> sous l'effet de la pénicilline	59
Figure 5.3	Photos personnelles de l'opération de nettoyage de la machine à traire.	65
Figure 6.1	Photos personnelle de carte géographique montre la zone d'étude.	72
Figure 6.2	Technique de prélèvement de lait.	74

Figure 6.3	Technique de test CMT	74
Figure 6.4	Taille des troupeaux visités	80
Figure 6.5	Nature de la litière utilisée	80
Figure 6.6	Fréquence de paillage	81
Figure 6.7	Fréquence d'enlèvement du fumier	82
Figure 6.8	Type de traite	82
Figure 6.9	Pourcentage des vaches prélevées selon la parité	83
Figure 6.10	Pourcentage des vaches prélevées selon le stade de lactation	84
Figure 6.11	Photos personnelle montre l'hygiène des pattes	85
Figure 6. 12	Photos personnelle montre l'hygiène du pis	85
Figure 6.13	Photos personnelle de <i>S. aureus</i> après coloration de Gram.	87
Figure 6.14	Photos personnelle de test catalase positif	88
Figure 6.15	Photos personnelle de test coagulase positif	88
Figure 6.16	Photos personnelle de <i>S. aureus</i> sur gélose au sang.	88
Tableau 3.1	Réactions biochimiques et autres caractères de <i>S. aureus</i> isolé de l'animal	41
Tableau 3.2	Facteurs de virulence potentiellement impliqués dans les mammites staphylococciques	43
Tableau 3.3	Pouvoir pathogène des staphylocoques chez quelques espèces animales	45
Tableau 5.1	Pouvoir désinfectant des principaux produits disponibles	63
Tableau 5.2	Principales lésions, causes pouvant touchés la mamelle et les moyen de lutte	66
Tableau 6.1	Liste des antibiotiques testés, leurs abréviations, la charge des disques et la Concentration minimale inhibitrice (CMI). (CLSI)	75
Tableau 6.2	Sensibilité de <i>Staphylococcus aux antibiotiques</i> selon	77

EUCAST

Tableau 6.3	Prévalence des mammites cliniques et subcliniques à l'échelle du troupeau, individuel et quartier.	79
Tableau 6.4	Taille du troupeau	79
Tableau 6.5	Nature de la litière	80
Tableau 6.6	Fréquence de paillage	81
Tableau 6.7	Fréquence d'enlèvement du fumier	81
Tableau 6.8	Type de traite	82
Tableau 6.9	Nettoyage des trayons avant la traite	83
Tableau 6.10	La parité	83
Tableau 6.11	Stade de lactation	84
Tableau 6.12	Fréquence des quartiers touchés selon la position	86
Tableau 6.12	Taux d'isolement de <i>S. aureus</i> de mammite clinique et sub-clinique à l'échelle troupeau et individu	87

INTRODUCTION

La mammite, de la vache laitière, est l'inflammation de la glande mammaire [1]. Elle est le plus souvent due à des agents pathogènes colonisant le canal du trayon et causant ensuite une infection intra-mammaire. Elle est considérée comme étant la maladie de production la plus fréquente et la plus coûteuse pour l'industrie laitière dans le monde [2]. La mammite est divisée en deux catégories : la mammite sub-clinique, elle est identifiée par l'estimation du comptage des cellules somatiques dans le lait (CCS), et la mammite clinique, elle est diagnostiquée par les signes cliniques observés principalement au niveau du pis et des signes généraux [3].

Les mammites causées par *S. aureus* sont les mammites les plus problématiques dans les élevages des bovins laitiers, de part leurs faibles réponses aux antibiotiques pendant la lactation et son évolution fréquente en forme chronique [4].

Les pertes de production laitière, lors de mammite à *S. aureus*, le plus souvent, sont de longue durée. Suite à la pathogénicité de *S. aureus*, liée aux facteurs de virulence (toxins: entérotoxines, exfoliatines,....., les protéines de surface: protéine A et les enzymes: coagulase, hémolysines), l'agent pathogène cause des dommages permanents au niveau du tissu sécrétoire du pis, qui est ensuite remplacé par du tissu non sécrétoire, ce qui diminue la capacité de production de lait de la vache [5].

Semblable à d'autres agents pathogènes contagieux, *S. aureus* se propage via les composants de la machine à traire, les mains du personnel qui fait la traite et les débarbouillettes. La prévention et l'abattage des sujets atteints par la forme chronique semblent être la meilleure solution pour lutter contre les mammites dues aux staphylocoques [6].

En Algérie, comme dans la plupart des pays, les mammites bovines constituent une pathologie dominante dans les élevages des bovins laitiers.

Plusieurs études ont été mené sur le sujet des mammites bovine, ce dernier a été abordé de plusieurs coté : étude de la prévalence Moula N., wilaya de Bejaia, 2022 [7], Tababouchet M. et Mimoune N., 2019 [8]. La recherche des germes responsables des mammites : Baazize-Amami D., et al., centre de l'Algérie, 2019 [9]. Etude des facteurs de risque : Kebbal S., et al., 2020 [10]. Etude de l'effet économique des mammites : Fartas A., Souk Ahras, 2021 [11].

La connaissance précise de la prévalence des mammites bovines, les germes en cause et les facteurs favorisant la dissémination de cette pathologie est indispensable pour la définition et l'adaptation des programmes de maîtrise des mammites aux différentes situations épidémiologiques.

Le présent travail comporte deux parties : la première partie est bibliographique a pour objectif de faire le point sur l'état actuel des connaissances enregistrées dans la connaissance des infections mammaires principalement celle causée par le *S. aureus*.

La deuxième partie est une enquête de terrain et de laboratoire sur les mammites chez la vache laitière. Cette partie permet de mettre en évidence:

- la prévalence des mammites cliniques et sub-clinique ainsi que les facteurs de risque favorisant la dissémination des mammites dans les élevages des bovins laitiers.
- le pourcentage d'isolement *Staphylococcus aureus* à partir du lait issu des vaches atteintes de mammites cliniques et sub-cliniques.
- la sensibilité de *staphylococcus aureus*, isolés de mammites, aux différents antibiotiques.

CHAPITRE 1

RAPPEL SUR L'ANATOMIE ET L'IMMUNITE DE LA MAMELLE

1.1. Anatomie de la mamelle des vaches :

La mamelle est une glande dont la fonction est la production et la sécrétion du lait. Chez les vaches, la mamelle apparaît dès le 32^{ème} jour de gestation au niveau de la face ventrale de l'embryon sous forme des épaissements. Elle subit après une série de développement pour donner à la fin une glande productrice du lait. Cet organe est constitué de 4 quartiers réunis à l'extérieur par un tégument. A l'intérieur, chaque quartier possède un parenchyme glandulaire indépendant des quartiers adjacents et ils sont séparés par des ligaments ce qui empêche le passage des bactéries d'un quartier à l'autre [12]

Le pis est maintenu en suspension par deux types de lames : les lames latérales qui s'insinuent sur la tunique abdominale (elles assurent une stabilité transversale) et les lames médiales qui s'adosent deux à deux (quartiers gauches contre quartiers droits). Elles forment le ligament suspenseur du pis. De l'appareil de suspension, partent les septa qui s'enfoncent dans le parenchyme et le partagent en lobes (12 lobes par quartier). Les lobes induisent les 12 conduits lactifères qui convergent dans le sinus Lactifère. Ce sinus permet l'accumulation entre les traies de 150 à 500mL de lait. Chaque lobe est composé de très nombreux acini mammaires, formes de lactocytes qui synthétisent le lait [12].

Chaque quartier se termine par un trayon. Il se compose d'une citerne du trayon (partie glandulaire du sinus lactifère) en communication avec la citerne de la glande (partie papillaire du sinus lactifère) via le relief annulaire. A son extrémité se situe le conduit papillaire ou canal du trayon.

La muqueuse du trayon est plissée et contient des fibres musculaires

lisses (qui participent à l'excrétion du lait). L'ostium papillaire conduit au canal du trayon. Il mesure 1 cm de long. A l'entrée du canal, les plis de la muqueuse vont seconcentrer et former la rosette de Fürstenberg qui est un filtre passif pour les

agents pathogènes. A l'extrémité du canal, un muscle lisse circulaire formant un sphincter permet la fermeture de celui-ci [13], [14]

Au sien de la mamelle, la masse glandulaire ne se forme qu'au cours de la gestation, elle produit du lait pendant la lactation et elle disparaît après le sevrage ou le tarissement [15].

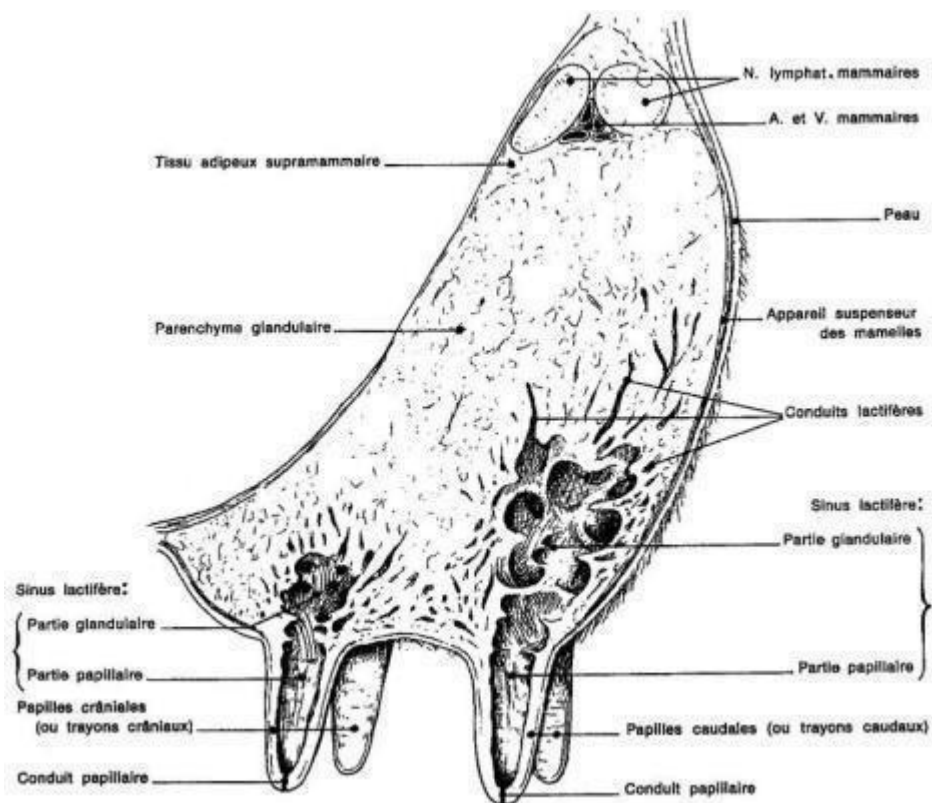


Figure 1.1 : Anatomie de la mamelle de vache [16].

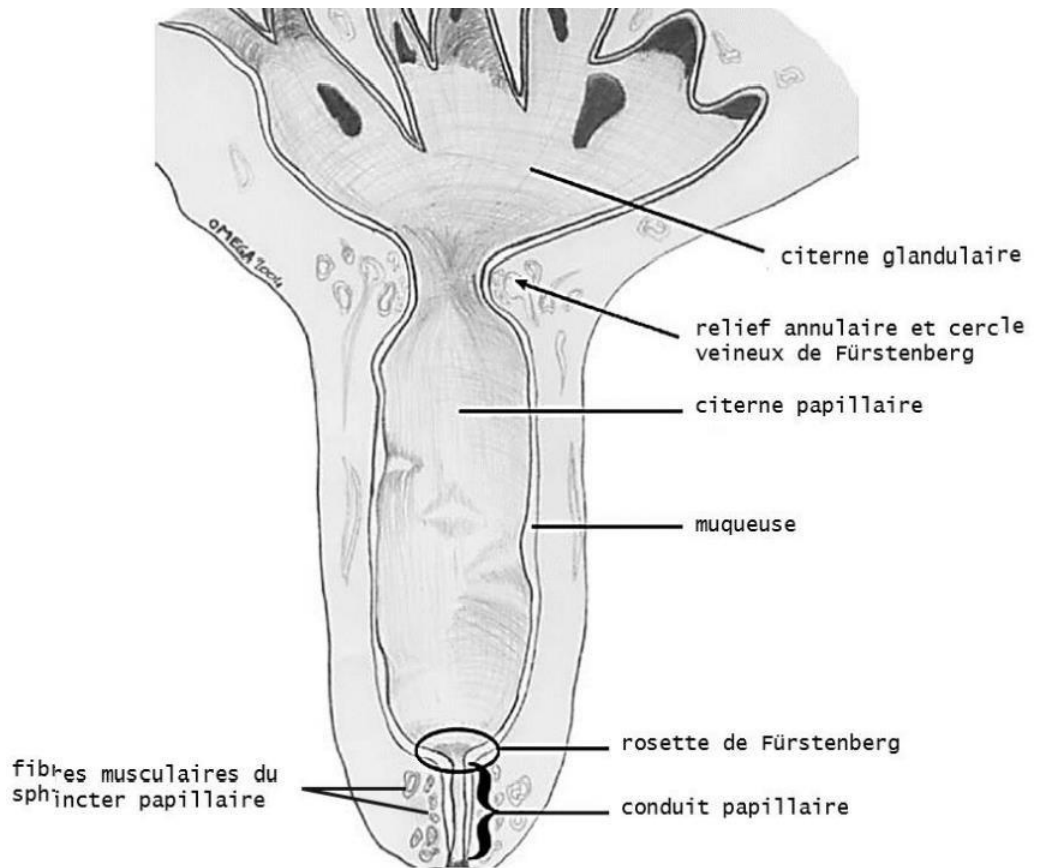


Figure 1. 2 : anatomie du trayon [16]

1.2. Immunité de la mamelle des vaches :

De la même que pour le système immunitaire général celui de la mamelle peut être classé en spécifique et non spécifique en plus des barrières mécaniques [17].

1.2.1. Les barrières mécaniques :

La peau saine du trayon constitue un environnement hostile aux bactéries grâce à ses couches de cellules mortes kératinisées et au film lipidique bactériostatique. Cette protection est compromise par les lésions cutanées (blessures, gerçure, verrue) et les produits d'hygiène de prétraite. L'application de produit émoullient en post-traite a pour objectif de protéger cette barrière cutanée. Le canal du trayon pourvu du sphincter, les replis internes, et la rosette de furstenberg joue un rôle mécanique en ralentissant la pénétration et la progression des germes. L'épithélium stratifié du canal du trayon produit de la kératine qui emprisonne les bactéries et permet leur

élimination. En effet, lors de l'éjection des premiers jets de lait une partie de la couche de kératine est évacuée. Elle est renouvelée par dégénérescence cornée. L'accumulation de kératine forme également un bouchon durant le tarissement de manière non systématique surtout chez les vaches hautes productrices.

Ces défenses diminuent la réceptivité de la mamelle aux infections [18], [19], [20].

En dehors des barrières mécaniques il existe des substances et agents ayant un effet antibactérien dont :

- La lactoperoxydase - thiocyanate d'hydrogène inhibe la croissance de certaines souches telle que *streptococcus agalactie* et *streptococcus uberis* [21].
- La lactoferrine sécrétée en quantité élevée en période de tarissement et en cas de mammite aigue. Il est capable de ralentir la croissance de bactéries ayant besoin de fer mais sans effet sur les staphylocoques et les streptocoques [19], [21].

1.2.2. L'immunité non spécifique :

L'immunité non spécifique (innée) est importante lors de la première rencontre avec l'agent pathogène. La réponse est assurée principalement par les macrophages, les neutrophiles et autres substances solubles. Même en absence de l'infection les leucocytes sont présents à des concentrations de 50 000 à 200 000 cellules par millilitre de lait [22].

1.2.3. L'immunité spécifique :

Elle est effectuée par les lymphocytes T, lymphocytes B et des anticorps (IgG, IgA et IgM). Ces agents sont mis en jeu une fois que les agents pathogènes ont dépassés le canal du trayon. La réponse spécifique reconnaît spécifiquement des déterminants antigéniques des pathogènes pour les éliminer sélectivement [23], [24].

CHAPITRE 2

RAPPEL SUR LES MAMMITES BOVINES

2.1. Définition :

La mammite est une inflammation d'un ou plusieurs quartiers, souvent développée en réponse à une infection bactérienne (colonisation ascendante). Elle peut être due à des virus ou des levures (*Candida*) ou suite à des désordres physiologiques ou à des traumatismes locaux (mammite aseptique).

Les mammites se présentent sous formes cliniques ou sub-cliniques et elles s'accompagnent d'augmentation du nombre des cellules somatiques (cellules épithéliales et globules blancs) qui dépasse les 200 000 CS/ ml et une modification chimique et biochimique du lait [25], [26], [27].

2.2. Pathogénicité :

La pénétration d'agents pathogènes dans la mamelle se fait principalement par voie galactogène par le biais de canal du trayon à l'exception de quelques bactéries pouvant pénétrer par voie hématogène (les mycoplasmes, les salmonelles, *Listeria monocytogenes* et *Mycobacterium paratuberculosis*) [18]. La contamination de la mamelle se fait préférentiellement lorsque le sphincter est ouvert, au cours de et après la traite, au tarissement et à l'approche du vêlage. On cite l'exemple de *Staphylococcus aureus* colonise la base du trayon et se multiplie avant de remonter le canal pour atteindre le sinus lactifère.

La pénétration peut également résulter de la propulsion de bactéries dans le trayon via le lait contaminé au cours de la traite ce qui permet la transmission de bactéries environnementales comme *Escherichia coli*. Enfin, la contamination peut être iatrogène en raison de défauts d'hygiène lors d'injections intra-mammaires ou de cathétérisme du canal du trayon [18], [28].

Lorsque les agents pathogènes débordent les défenses passives du trayon, ils colonisent les canaux galactophores. Certaines bactéries ont la capacité d'adhérer à l'épithélium, de pénétrer dans les cellules et de s'y multiplier.

A l'intérieur des cellules, les bactéries échappent aux défenses du système immunitaire. Les toxines bactériennes secrétées dans la mamelle associées au passage des polynucléaires neutrophiles du sang vers la mamelle engendrent une perméabilité accrue de l'épithélium favorisant la pénétration des bactéries vers le parenchyme mammaire, voire même la circulation sanguine. L'inflammation provoquée par la multiplication bactérienne dans le parenchyme mammaire entraîne une hyperplasie du tissu inter-alvéolaire ce qui forme des nodules de consistance ferme pouvant être détectés à la palpation de la mamelle. Puis un phénomène de fibrose s'installe piégeant les bactéries à l'intérieur d'abcès où elles sont hors de portée du système immunitaire. L'évolution de l'infection dépend du type de bactéries et du statut immunitaire du bovin [17], [25].

Suite aux interactions entre le système immunitaire et les agents pathogènes, trois situations sont possibles:

1. la guérison : l'infection est éliminée avec ou sans forme cliniquement visible grâce à la réponse immunitaire.
2. l'extension : la réponse de l'organisme est dépassée, l'infection progresse dans la mamelle provoquant une mammite clinique ou subclinique pouvant évoluer vers la chronicité.

la fluctuation : l'élimination incomplète des agents pathogènes par la réponse de l'organisme permet une guérison clinique mais non bactériologique, d'où des phases d'amélioration ou d'aggravation

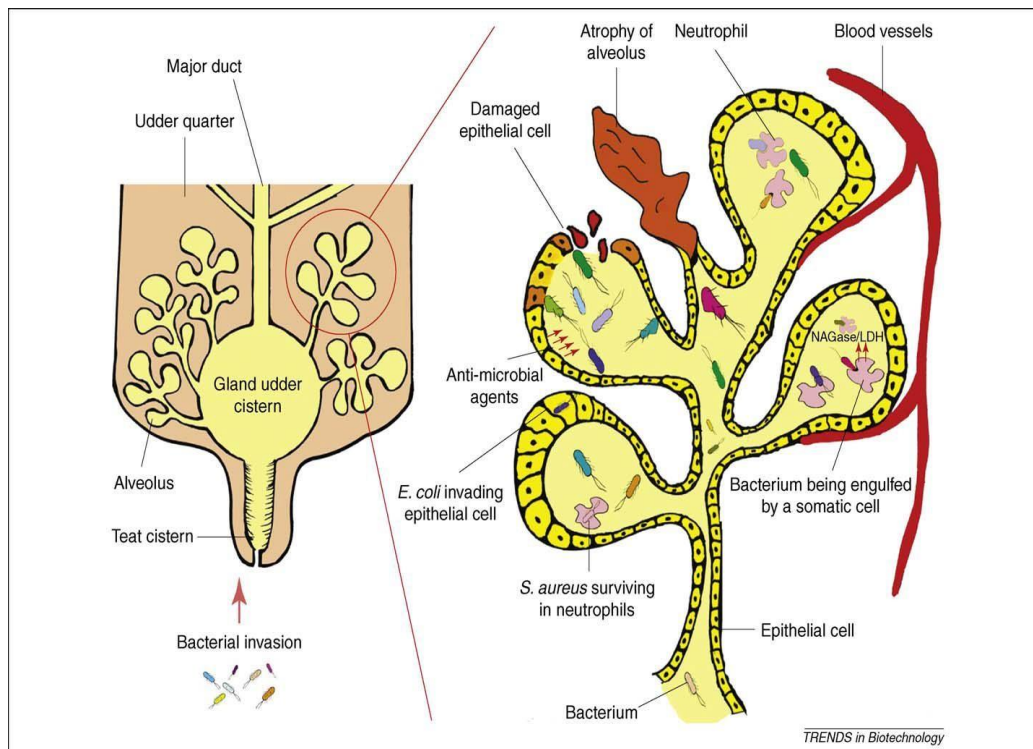


Figure 2.1 : schéma représentatif du développement d'une mammite dans une mamelle infectée [29].

2.3. Pertes économiques engendrées lors des mammites :

Les mammites bovines occasionnent des pertes économiques considérables dans les élevages laitiers, en raison de la chute de la production laitière, des pertes dans l'industrie laitière, réforme des animaux, les coûts thérapeutiques (traitement et frais vétérinaire) et prophylactiques [30].

D'après Raboisson et al (2020) [31], l'étiologie influençait significativement la perte de mammite clinique par cas. La perte moyenne a été déterminée à 224 € par cas pour toutes les étiologies publiées. Elle était respectivement de 457 € et 101 € par cas de mammite clinique due à des bactéries Gram-négatives et Gram- positives, et respectivement de 428 € et 74 € par cas de mammite clinique due à *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* [31].

Malgré le coût très important des infections mammaires (2 fois plus que les maladies de la reproduction), elles sont les moins bien gérées par les éleveurs. Dans 95 % des cas, les mammites cliniques sont traitées par l'éleveur sans l'intervention du vétérinaire, alors que couramment les troubles

de reproduction sont suivis par le praticien ou le technicien du centre d'insémination [31].

2.4. Description et symptômes :

2.4.1. Mammites cliniques :

Les mammites cliniques se caractérisent par une modification des sécrétions lactées avec des signes de l'inflammation au niveau de la mamelle (enfleure, douleur, chaleur, rougeur) et parfois en dehors de la mamelle (fièvre, déshydratation, faiblesse et trouble de l'appétit). Elles seront considérées aiguës ou suraiguës dans la situation de changements soudains et chroniques lors que la situation est récurrente ou continue [32], [33].

2.4.1.1. Mammites suraiguës :

Elles sont caractérisées par une apparition brutale et une évolution rapide. La sécrétion lactée est soit interrompue soit très modifiée. Le lait est d'aspect séreux, aqueux, hémorragique, sanieux ou purulent. La mamelle est très congestionnée. L'état général est très affecté et l'évolution vers la mort est fréquente en absence de traitement précoce. Les symptômes généraux sont principalement caractérisés par l'abattement, l'hypothermie ou la fièvre, tachycardie, tachypnie, la déshydratation et l'atonie ruminale [34], [35].



Figure 2.2 : mammite suraiguë [36].

2.4.1.2. Mammmites aiguës :

Ce sont les mammmites courantes, d'apparition brutale, l'inflammation du quartier est plus ou moins marquée. Les symptômes généraux sont plus modérés, l'hyperthermie n'est pas systématique. La production laitière est altérée en quantité et en qualité : la sécrétion lactée prend une teinte jaunâtre, un aspect aqueux, et des mèches de grumeaux se forment rendant l'éjection du lait difficile. L'évolution est plus lente, et en absence de traitement, une chronicité apparaît avec enkystement des bactéries dans le parenchyme mammaire [35], [36]

2.4.1.3. Mammmites chroniques :

Généralement elles suivent les mammmites aiguës. Elles se caractérisent par l'absence de symptômes généraux, les symptômes locaux sont discrets et tardifs : fibrose, noyaux d'induration situés dans le parenchyme mammaire. La sécrétion lactée présente deux phases : une plus ou moins aqueuse et l'autre, du pus en amas obstruant le canal du trayon. En absence du traitement ce type de mammmites s'achève, après une évolution lente sur plusieurs mois, par le durcissement complet et le tarissement du quartier [34].

2.4.2. Mammmites subcliniques :

Elles sont les plus fréquentes problématiques et coûteuses. Elles se caractérisent par une simple modification de la sécrétion (diminution de la production et augmentation du nombre des cellules somatiques dans le lait) sans signes clinique. Elles touchent 40% des vaches avec un coût très élevé et baisse de production laitière à long terme. Elles ne sont diagnostiquées qu'aide d'examen complémentaires (CMT, Numération cellulaire du lait individuel, mesure de la conductivité du lait,...) [37], [38].

2.5. Etiologie des mammmites :

Lors des mammmites bovines 3 facteurs essentiels ont été impliqués. Le facteur déterminant est présenté par les germes tandis que l'animal et son environnement sont jugés comme des facteurs favorisant [31].

2.5.1 .Facteurs favorisants :

Les facteurs de risque favorisant la survenue des mammites sont très variés et peuvent être divisés en :

2.5.1.1. Facteurs liés à l'animal :

2.5.1.1.1.L'hérédité :

Il existe une corrélation génétique positive entre la production laitière et la numération cellulaire et la présence des mammites ce qui indique que les vaches fortes productrices sont plus exposées aux infections mammaires [39].

2.5.1.1.2.Le stade de lactation :

La plupart des nouvelles infections ont lieu pendant les trois premiers mois de lactation. Parmi celles-ci et les infections ultérieures, 80 % persistent jusqu'au tarissement. De plus, la moitié des quartiers assainis se réinfecte pendant la même lactation, donc seulement 10 % des quartiers nouvellement infectés pendant la lactation considérée seront réellement assainis avant le tarissement. Cette persistance des infections sub-cliniques explique leur importance économique. Ensuite pendant la période sèche (entre tarissement et vêlage), on observe de nouvelles infections (15-20%) pendant les trois premières semaines du tarissement, ainsi que dans les quinze jours précédant le vêlage. Entre ces deux périodes, la mamelle complètement involuée semble résistante aux infections hormis celles dues à *Arcanobacterium pyogenes*. Enfin en l'absence de traitement au tarissement, 80% des infections persistent jusqu'au vêlage [34].

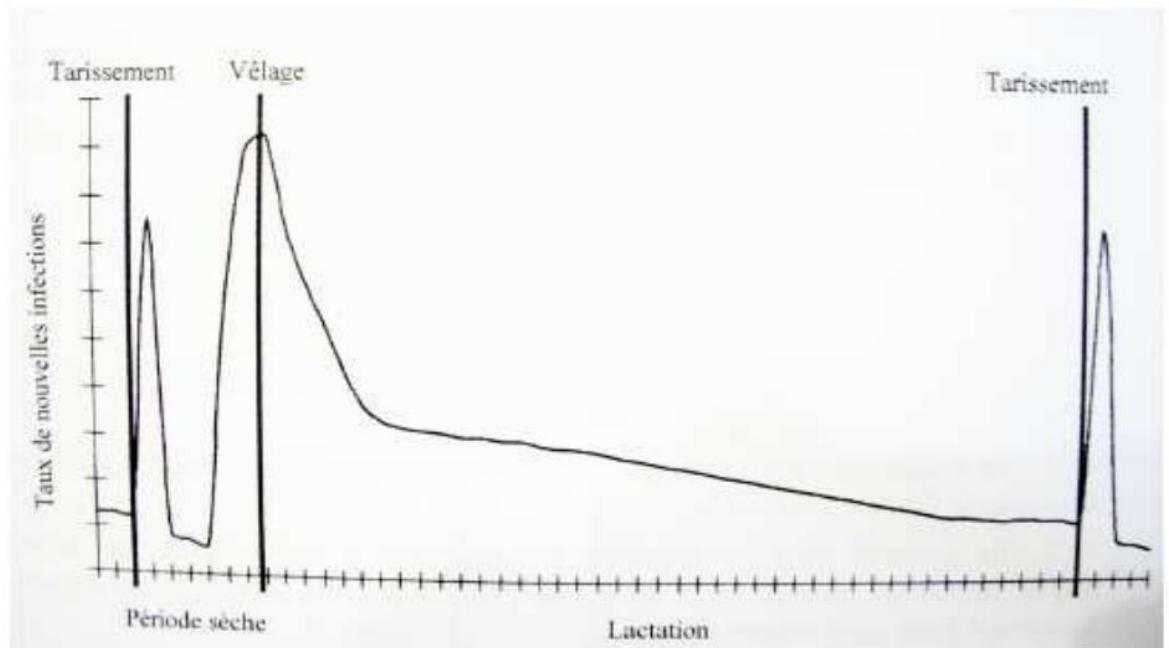


Figure 2.3 : Schéma représentatif de l'incidence des nouvelles infections mammaires selon le stade de lactation [40].

2.5.1.1.3. Numéro de lactation :

Le risque d'infection de la mamelle augmente avec le numéro de lactation parce qu'avec l'âge le sphincter du trayon perd l'élasticité ce qui contribue à la réduction de la distance entre les trayons et le sol [41].

2.5.1.1.4. L'anatomie de la mamelle :

La distance entre les trayons et le sol, la forme des trayons et l'équilibre antéropostérieur des quartiers ont une influence sur l'infection de la mamelle [42].

2.5.1.2. Facteurs liés à l'environnement:

Il conditionne d'abord la fréquence des traumatismes des trayons qui favorisent l'infection par les bactéries qui ont pour réservoir la peau du trayon et les plaies du trayon. Des conditions de logement défectueuses ont une incidence négative directe sur le taux cellulaire du tank et les mammites dites de traite. Enfin la

pollution microbienne du lieu de couchage et l'ambiance du bâtiment conditionnent le taux de contamination du trayon. La conséquence est une augmentation du nombre de mammites dites d'environnement. Par conséquent, la conception du logement doit tenir compte de ces notions. Le logement doit permettre d'éviter au maximum les lésions des trayons dont on connaît les circonstances d'apparition : relevé difficile lors de logettes mal conçues, couchage sur sol rugueux, glissades sur le béton non rainuré, bousculades en sortie de traite autour de l'abreuvoir... Pour réduire au minimum les contaminations des trayons par les germes d'environnement, la plus grande attention doit être portée au lieu de couchage, en particulier l'état de la litière, sa température et son humidité. Une bonne litière doit être sèche et de température n'excédant pas 38°C, auquel cas il faut la changer. Des normes existent concernant la surface de litière par animal (7m² minimum) et le volume d'air par animal ; elles ont été éditées pendant les années 80 et il convient aujourd'hui de les adapter aux vaches hautes productrices dont les besoins sont bien supérieurs [43].

2.5.1.3. Facteurs liés à la traite :

La technique de traite et le fonctionnement de la machine à traire sont impliqués dans les mammites par deux mécanismes : les lésions du trayon et les phénomènes de reflux de lait ou phénomènes d'impact. Comme signalé plus haut, les lésions du trayon affaiblissent son rôle de barrière vis-à-vis des micro-organismes. Parmi les défauts de fonctionnement de la machine en cause, on peut citer un niveau de vide excessif qui entraîne l'éversion du canal du trayon et un pulsateur défectueux. Pour ce qui est de la technique de traite, toute sur-traite, ou défaut d'arrachage des griffes peuvent occasionner des lésions du trayon.

Le phénomène de reflux est dû à des entrées d'air intempestives au niveau d'un manchon trayeur. Ces entrées vont occasionner une baisse du niveau de vide dans ce manchon trayeur et un reflux du lait de ce trayon vers les autres faisceaux trayeurs où le niveau de vide est plus élevé. Ce reflux de lait peut être le vecteur de germes.

Enfin, on observe aussi des phénomènes de traite humide, les trayons baignant dans le lait qui n'est pas évacué assez vite, notamment lors des problèmes de

pulsation ou de mauvaise évacuation du lait due à une pente de lactoduc trop faible [42].

2.5.2. Facteurs déterminants :

2.5.2.1. Les bactéries :

Les mammites causées, le plus souvent, par des bactéries. Ces dernières peuvent être classées en deux classes : celle des bactéries contagieuses (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*) peuvent être transmises d'une vache à une autre et causent fréquemment des mammites sub-cliniques. Les bactéries environnementales (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp*) se manifestent par des mammites cliniques [44].

D'après d'autres auteurs ces bactéries sont classées en majeures et mineures suivant la fréquence d'isolement et l'impact économique lors des mammites cliniques [45].

Parmi les bactéries incriminées on peut noter :

2.5.2.1.1. Les entérobactéries :

Ce groupe ressemble les bactéries Gram négatif du tube digestif principalement les coliformes dont *Escherichia coli* (*E. coli*) présente l'espèce type [46]. En pratique il existe deux souches de l'espèce *E. coli* :

- souches environnementales s'installent pendant la période de lactation et provoquent des mammites cliniques colibacillaires avec une forte sécrétion de toxine dans l'organisme.
- souches mammaires s'implantent en période sèche et s'expriment dans les trois mois suivant le vêlage avec des mammites subaiguës ou subcliniques [18].



Figure 2.4 : *Escherichia coli* [47].

2.5.2.1.2. Les staphylocoques :

Ils sont considérés des agents pathogènes émergents de la mammite bovine, actuellement ils présentent les micro-organismes les plus isolés chez les vaches et les génisses de troupeaux. Ils peuvent entraîner des mammites cliniques avec des symptômes aigus très graves [13].

- *Staphylococcus aureus* :

Est à l'origine de mammite subclinique dans la majorité des cas. Le germe pénètre au sein du parenchyme [48], [49].

Il s'agit d'une bactérie à caractère mono ou oligoclonal. Une à deux souches, au maximum, sont responsables des infections à *Staphylococcus aureus* dans un troupeau [48], [49].

- *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN) :

Staphylococcus à coagulase négative (SCN) sont les staphylocoques qui représentent un test négatif à la coagulase, contrairement à *S. aureus*. Ce sont les germes de la flore normale de la peau du trayon et peuvent provoquer une infection (clinique ou subclinique) à la faveur d'un dysfonctionnement du sphincter du trayon. L'imputabilité des SCN dans l'origine de problème de mammite dans un troupeau est difficile à établir, cependant ils sembleraient jouer un rôle prépondérant dans les mammites chez les génisses [50].

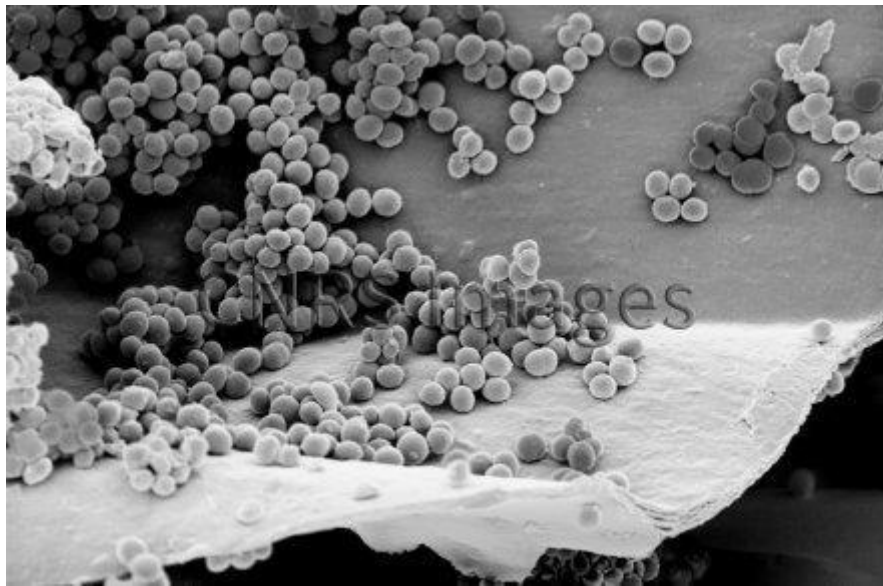


Figure 2.5 : Observation d'un biofilm de *S. aureus* sous microscope électronique à balayage Gx34000

2.5.2.1.3. Les streptocoques :

Ce groupe de bactéries provoque des mammites subcliniques. Parmi les espèces les plus connues on note :

- *Streptococcus uberis* :

Ce germe est un germe ubiquitaire, susceptible d'infecter différents organes et de se multiplier partout. On le trouve sur la peau, les trayons, le pelage mais aussi sur les naseaux et dans la cavité buccale. C'est une coque Gram+. Il est très présent dans l'environnement. Tout comme *E. coli*, son origine est les fèces qui causent une bonne part des mammites environnementales [48], [51].

- *Streptococcus agalactiae* :

Cette espèce infecte la citerne et les conduits de la glande mammaire provoquant la destruction de parenchyme et une agalactie (réduction de la production laitière) [43].



Figure 2.6 : *Streptococcus agalactiae* [43].

2.5.2.1.4. Les mycoplasmes :

Malgré qu'elles ne soient pas fréquentes, les mammites à mycoplasme, sont les plus couteuses parce qu'elles sont récidivantes. L'infection de la mamelle par les mycoplasmes s'effectue par voie endogène suite à d'autres maladies (maladies respiratoires, kératite, arthrites). La transmission est très rapide lors de traite où 80% des vaches peuvent être touchés en quelques semaines [18].

2.5.2.2. Autres agents pathogènes :

2.5.2.2.1. *Arcanobacterium pyogenes* :

Est à l'origine des mammites dites « mammites d'été ». Ces mammites touchent majoritairement les vaches tarées ou les génisses. L'implication de vecteurs tels que les mouches est supposée (*Musca domestica* et *Musca autumnalis*). Ce germe est à l'origine de mammites très sévères où le lait du quartier atteint prend un aspect crémeux, blanchâtre. Dans la majorité des cas, le quartier est définitivement perdu [52].

2.5.2.2.2. Les contaminants du lait :

Listeria monocytogenes et *Salmonella* sont des contaminants très fréquemment recherchés dans le lait et cela dans le cadre de la sécurité alimentaire. Cependant ces germes sont très rarement à l'origine de mammites. La contamination du lait est dans la très grande majorité des cas liée à l'environnement de collecte et le conditionnement des produits lactés et leurs dérivés [52].

2.5.2.2.3. Virus :

De façon plus marginale, certains virus ont été mis en évidence lors d'épisode de mammites cliniques et subcliniques. D'après Wellenberg [44] 25% des mammites sont d'origine inconnue ce qui suggère soit la difficulté à mettre en évidence certaines bactéries, soit d'autres causes non recherchées telles que les virus pouvant être à l'origine de ces mammites. Le coût important du diagnostic de laboratoire, les nombreux signes cliniques lors d'infection virale, le caractère subclinique des mammites virales, est d'autant d'éléments qui affectent la recherche du rôle des virus dans les mammites [40].

2.5.2.2.4. Levures et algues :

Les levures sont retrouvées en grand nombre dans l'environnement. Quelques cas d'infections intra mammaires ont été décrits dans la littérature. Les isollements ont le plus souvent mis en évidence : *Candida sp.* Leur inoculation est souvent la résultante d'une mauvaise hygiène lors de l'administration de traitements pour les mammites ou d'utilisation de seringues à usage multiple [40].

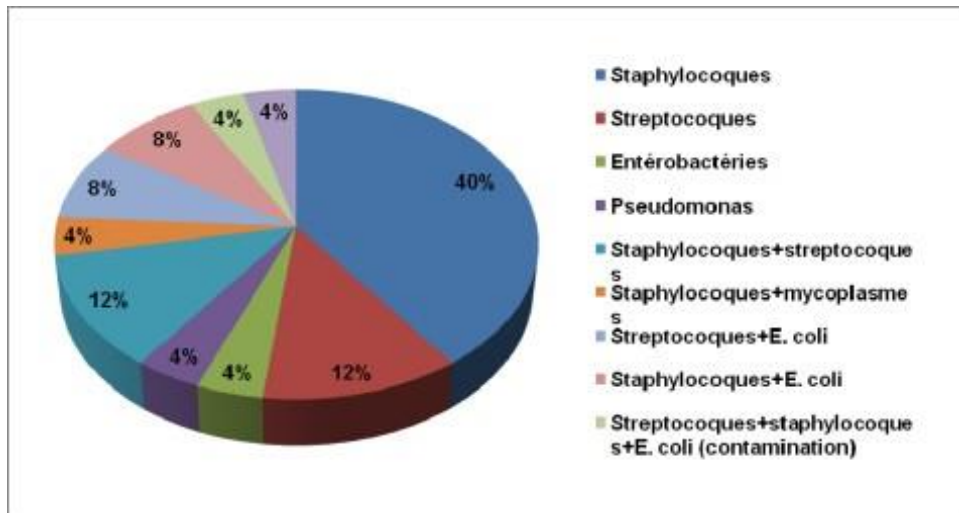


Figure 2.7 : Fréquence des germes isolés de cas de mammites subcliniques (Algérie 2013) [53].

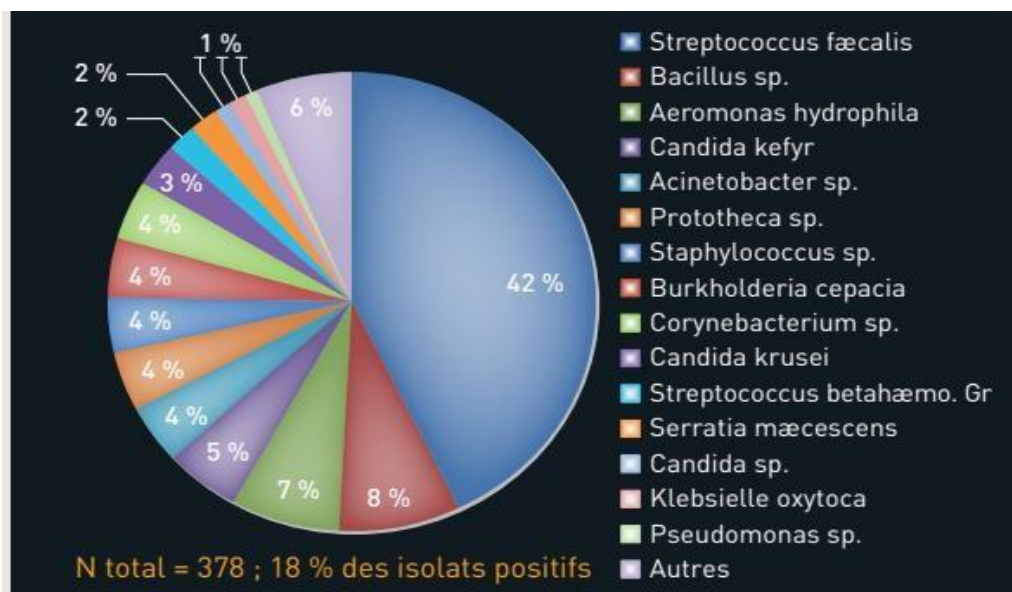


Figure 2.8 : Répartition des isolats inhabituels en culture surprélèvements de lait (France) [54].

2.6. Modèle épidémiologique des pathogènes impliqués dans les mammites

2.6.1. Modèle mammaire ou modèle contagieux :

Dans le modèle mammaire, les trayons des vaches infectées constituent le réservoir primaire des germes. Pendant la traite, les pathogènes passent

de quartiers à quartiers ou de mamelles à mamelles via l'intermédiaire des réservoirs secondaires (lavettes, manchons trayeurs, mains des éleveurs) de plaies ou à cause du mauvais fonctionnement de la machine à traire.

Les bactéries concernées par ce modèle contagieux présentent un caractère oligoclonal c'est à dire qu'une à deux souches seulement sont retrouvées dans le troupeau, d'où une très grande contagiosité. La prévalence, soit le nombre de vaches atteintes, est élevée ; et l'incidence, soit le nombre de nouveaux cas, est stable tout au long de la lactation. Les germes concernés induisent des mammites subcliniques ou des mammites chroniques, avec de temps en temps (mais non systématiquement) l'émergence de signes cliniques [18].

Les principales bactéries impliquées dans le modèle mammaire sont :

Staphylococcus aureus, *Streptococcus agalactiae* et *Streptococcus dysgalactiae*

2.6.1.1. *Staphylococcus aureus* :

S. aureus présente un caractère oligoclonal d'où sa très grande contagiosité. Cette bactérie se localise en de nombreux endroits : le lait, les micro-abcès, les cellules phagocytaires, les cellules épithéliales mammaires et la surface du tissu épithélial mammaire [40].

2.6.1.2. *Streptococcus agalactiae* :

S. agalactiae appartient à la flore commensale de la mamelle et survit peu dans le milieu extérieur. Il se développe principalement dans le lait des quartiers contaminés, mais peut également être retrouvé sur les crevasses des trayons et les mamelles des génisses [40].

2.6.1.3. *Streptococcus dysgalactiae* :

S. dysgalactiae se développe principalement sur les lésions des trayons, mais peut aussi être retrouvé sur les pis et les poils mammaires. Même si la principale source de contamination reste la traite, ce germe a aussi la particularité d'être transmissible par certains insectes lors d'une piqûre sur

la mamelle. On retrouve souvent une co-infection *S. dysgalactiae* - *S. aureus* [54].

2.6.2. Modèle environnemental :

Dans ce mode de contamination, les bâtiments d'élevage, et très principalement la litière, fournissent le réservoir primaire aux bactéries. La transmission se fait alors par contact direct entre les mamelles et cette litière lors des périodes de couchage de la vache.

Les bactéries concernées par ce modèle environnemental présentent un caractère multiclonal, c'est à dire qu'un grand nombre de souches sont retrouvées dans l'élevage, et sont donc peu contagieuses. La prévalence est généralement faible, mais peut varier au cours de l'année suivant l'évolution des conditions de logement.

Les germes impliqués induisent des mammites cliniques, majoritairement au moment du vêlage, même si certaines espèces peuvent subsister au traitement et conduire à des mammites subcliniques.

La principale bactérie retrouvée dans le modèle environnemental est *Escherichia coli*. Il s'agit d'une bactérie commensale du tube digestif, peu contagieuse de par son caractère multiclonal. Elle est excrétée quotidiennement dans les bouses, et se retrouve donc systématiquement dans la litière. Les signes cliniques induits par

E. coli varient en fonction de la souche. Ainsi la contamination pendant la lactation provoque des mammites cliniques pouvant être très sévères voire à des bactériémies, tandis que la contamination pendant la période sèche conduit généralement à des mammites latentes [18].

2.6.3. Modèle mixte :

Certaines bactéries peuvent provenir initialement de l'environnement et se transmettre ensuite pendant la traite : c'est le modèle mixte. Dans cette situation, il y a enchaînement ou coexistence dans un même élevage du modèle contagieux et du modèle environnemental. La bactérie revêt alors à la fois un caractère oligoclonal et multiclonal [40].

Streptococcus uberis appartient à ce modèle mixte ; ce germe ubiquitaire survit partout et se multiplie activement dans les conditions qui lui sont favorables. La bactérie appartient à la flore commensale de la peau des trayons et de la mamelle, du pelage, des nasaux, de la cavité buccale, des intestins et des voies génitales. Elle est donc excrétée dans les bouses et les sécrétions vaginales, et se retrouve ponctuellement dans la litière et les herbages surpâturés : l'environnement est donc une première cause d'infection. La bactérie présente alors son caractère multiclonal qui conduit à des mammites cliniques. La traite peut, par ailleurs, propager l'infection : la bactérie revêt alors son caractère oligoclonal. Dès le début de l'infection, la bactérie s'internalise profondément dans le tissu mammaire et provoque des mammites subcliniques. Ces deux modèles de transmissions se succèdent, comme énoncé ci-dessus, où cohabitent [18]

CHAPITRE 3

RAPPEL SUR LES STAPHYLOCOQUES

3.1. Historique :

Les staphylocoques sont des pathogènes ancestraux, présents depuis la nuit des temps. Ils ont été décrits à la fin du XIX^e siècle par Robert Koch en 1878 suite à l'observation au microscope faisant apparaître des « amas de grains » dans le pus de furoncle. Ils sont cultivés par Louis Pasteur en 1880. En 1881, Alexander Ogston isola la bactérie à partir d'abcès post opératoire et reproduisit l'infection chez l'animal. En 1884, la bactérie a été cultivée in vitro par Anton Rosenbach qui a décrit la première espèce connue : *Staphylococcus aureus* ou staphylocoque doré en raison des colonies obtenues en culture [55], [56]. Le premier antibiotique efficace sur les Staphes, pénicilline G, était détecté en 1942. Le premier cas de résistance était en 1943. Les années 1990, une résistance a été estimée de 95% à cet antibiotique [57], [58].

3.2. Taxonomie :

Staphylococcus est un nom grec (staphylé signifie grappe de raisin, kokkos signifie grain). Cette appellation a été proposée par Ogston en 1883 afin de désigner des coques regroupées en amas irréguliers responsables d'infections suppurées chez l'homme. Le genre *Staphylococcus* a été défini en 1884 par Rosenbach [49]. Il appartient au phylum des Firmicutes (bactérie à Gram positif) à la classe des Bacilli, l'ordre des Bacillales et à la famille des *Staphylococcaceae*. Cette dernière comporte trois autres genres : *Gemella*, *Macrococcus* et *Salinicoccus* [56], [59].

Au sein du genre *Staphylococcus* cinquante espèces et sous-espèces ont été identifiées. *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus connue et la plus impliquée dans les infections. C'est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Cette espèce comporte deux sous-espèces *S. aureus*

subsp. aureus et *S. aureus subsp. anaerobius* (catalase -, pathogène pour les animaux) [56], [60].

3.3. Biologie :

3.3.1. Caractères bactériologiques et biochimiques :

Les staphylocoques sont des germes pyogènes par excellence. Ils sont des coques immobiles de 0,8 à 1µm de diamètre. Ce sont des bactéries non sporulées. A la coloration de Gram apparaissent sous forme de coque à Gram positif groupés en paires, chainettes ou en amas irréguliers en grappe de raisins. [56], [59]

Ils peuvent se développer sur gélose nutritive, enrichi en sang, trypticase soja et gélose cœur-cervelle. Sur gélose ordinaire, les staphylocoques, donnent des colonies bombées de 1 mm de diamètre, lisses, opaques, brillantes. En gélose profonde, l'espèce *S. aureus* pousse dans la zone d'aérobiose et d'anaérobiose (aéro-anaérobies facultatives) ce qui explique sa multiplication à la surface de la peau et au niveau des plaies profondes. Certaines souches nécessitent l'apport de facteurs de croissance ou un milieu hypertonique (milieu sélectif de Chapman à 7,5% de NaCl). Sur ce dernier *S. aureus* donne des colonies à pigmentation jaune-orange [61].

Les staphylocoques sont des bactéries aérobies anaérobies facultatives. Elles sont catalase + (différence avec les streptocoques), coagulase + (différence avec staphylocoques coagulase -), DNase + (espèce *S. aureus*), fermentation du glucose (différence avec microcoques) [57]

Tableau 3.1 : Réactions biochimiques et autres caractères de *S. aureus* isolé de l'animal [62].

Espèce	Test	Résultats
<i>Staphylococcus aureus</i>	Coagulase	+
	DNase	+
	Hémolysine	+
	Phosphatase alcaline	+
	Urease	11 à 89% des souches positives
	B- galactosidase	-
	Production d'acétoïne	+
	Novobiocine 5ug (disque)	Susceptible
	Polymixine B 300 unit (disque)	Resistant
	Mannitol	+
	Maltose	+
	Mannose	+
	Tréhalose	+
	Xylose	-

3.3.2. Facteurs de virulence:

Les facteurs de virulence des espèces de genre *Staphylococcus*, spécialement *S. aureus*, se présentent par les constituants de la paroi, les substances enzymatiques et toxiques produites.

3.3.2.1. Les constituants de la paroi :

S. aureus possède une paroi pourvue de peptidoglycane et acides teichoïques dont ils induisent la production des cytokines impliquées dans le choc infectieux. La protéine A, liée au peptidoglycane, fixe les immunoglobulines G par leur région Fc qui pourrait interférer action opsonisante.

S. aureus est pourvue d'un récepteur pour la fibronectine et des adhésines qui jouent un rôle dans son adhésion aux tissus et au matériel étranger [63], [64].

3.3.2.2. Les enzymes :

Plusieurs enzymes sont élaborés :

- La coagulase libre (exo-enzyme) elle définit l'espèce *S. aureus* capable de coaguler le plasma. Elle entoure le corps bactérien de fibrine ce qui le protège de la phagocytose.
- La coagulase liée au corps bactérien fixe le fibrinogène et assure leur agglutination.
- Désoxyribonucléase thermostable, hyaluronidase, fibrinolysine, lipase gélatinase : ce sont des enzymes d'extension de l'infection dans les tissus.

3.3.2.3. Les toxines :

De nombreuses toxines peuvent être produites :

- **Hémolysine (Staphylolysine)** toxine à action cytolytique sur les hématies.
- **Leucocidine** cytotoxique pour les granulocytes.
- **Entérotoxines** dont ils se présentent sous 6 variétés (de A à F) ayant l'activité biologique (intoxication alimentaire) mais des spécificités immunologiques différentes.
- **TSST-1** (Toxic shock syndrome toxin) est la toxine du syndrome

de choctoxique

- **Les toxines exfoliatrices** provoquent un décollement intra-épidermique (lésion bulleuses).

Les Entérotoxines, TSST et les toxines exfoliatrices sont appelées superantigènes par rapport à leur capacité d'interaction avec les lymphocytes T et les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité [63], [64].

Tableau 3.2 : Facteurs de virulence potentiellement impliqués dans les mammites staphylococciques [56].

Facteurs de virulence	Mécanismes d'action
Adhésines :	
Fibronectin-binding protein FnBPA, FnBPB	Adhésion à la matrice extracellulaire. Pénétration dans les cellules épithéliales mammaires.
Composants de surface :	
Microcapsules (CP5, CP8)	Résistance à la phagocytose.
Intercellular antigen (ica)	Formation de biofilm.
Biofilm associated protein	Formation de biofilm.
Acide lipotéichoïque	Réaction inflammatoire.
Peptidoglycane	Inflammation, hypersensibilité retardée.

Toxines : Hémolysine alpha	Cytotoxique pour les cellules épithéliales mammaires, les cellules polynucléaires et endothéliales. Implication dans les mammites gangreneuses.
Toxines : Hémolysine bêta	Cytotoxique pour les cellules épithéliales mammaires.
Toxines : Leucotoxines (hémolysine gamma, LukM/F')	Cytotoxique pour les polynucléaires et les monocytes. Implication dans les mammites gangreneuses.
Toxines : Entérotoxines	Perturbation de la réponse immunitaire.

3.3.3. Pouvoir pathogène :

Le pouvoir pathogène de *S. aureus* se présente sous forme de manifestations suppuratives, nécrotiques ou entériques [63].

Les suppurations localisées : furoncles (folliculite), panaris (doigt), cellulite infectieuse (syndrome de Lyell : peau ébouillanté), arthrite septique, ostéomyélite, infections ORL (sinusite, angine, otite), les infections viscérales (abcès de poumon).

Les septicémies et endocardites : peuvent être secondaire à n'importe quel foyer infecté mais surtout à des infections sur cathéter.

Les manifestations digestives : les toxi- infections alimentaires surviennent 2 à 6 heures après l'ingestion d'un aliment contenant l'entérotoxine staphylococcique thermostable.

Syndrome de choc toxique : lié généralement à la toxine TSST. Il se manifeste par la fièvre, hypotension et des atteintes cérébrale, rénale, hépatique et musculaire

Tableau 3.3 : pouvoir pathogène des staphylocoques chez quelques espèces animales [56].

Espèces	Hôtes	Maladies
<i>S. aureus</i>	Bovins	Mammites, impétigo.
	Ovins	Mammites, dermatites, folliculite bénigne.
	Chevaux	dermatites, infections urinaires et suppurations diverses.
	Chiens	dermatites, suppurations diverses (rares).
	Volailles	dindes : arthrites, septicémies. poulet : arthrites.
<i>S. intermedius</i>	Chiens	Pyodermites, métrites, cystites, otite externe, suppurations diverses.
	Chats	Suppurations diverses.
	Bovins	Mammites (rare).
<i>S. hyicus</i>	Bovins	Mammites (rare).
<i>S. aureus</i> subsp. anaerobius	Ovins	Lymphadinites, maladies des abcès.

	Chats	Cystites et suppurations diverses.
<i>S. delphini</i>	Dauphins	Lésions cutanées suppuratives.
<i>S. schleiferi subsp coagulans</i>	Chiens	Otites externe.

CHAPITRE 4

EPIDEMIOLOGIE DES MAMMITES CAUSEES PAR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* CHEZ LES ESPECES BOVINE

4.1. Rappel sur les mammites à *Staphylococcus aureus* chez les vaches :

S. aureus provoque des mammites cliniques aiguës, ces dernières ont tendance à devenir chroniques. La capacité de *S. aureus* à provoquer une infection chronique est corrélée à sa faculté d'échapper à la réponse immunitaire et à persister long temps dans des niches particulières au sein de la mamelle. Des formes de mammites suraigües ont également été rapportées. Elles sont caractérisées par une dégradation de l'état général, une déshydratation, une anorexie, avec une hypothermie ou une hyperthermie. La forme gangréneuse est caractérisée par une forte inflammation et une nécrose au niveau du quartier atteint qui devient froid, bleuâtre, avec une sécrétion gazeuse rouge foncée dégageant une odeur nauséabonde [65], [66], [67].

4.2. La pathogénie des mammites à *S. aureus* :

La pathogénie des mammites à *S. aureus* permet de mieux comprendre les choix de cibles antigéniques et de stratégies vaccinales, décrits dans la littérature. De nombreux auteurs ont décrit trois phases lors d'infection à *S. aureus* : l'adhésion aux cellules de l'hôte et à la matrice protéique extracellulaire, l'invasion ou la pénétration et l'évasion du système immunitaire de l'hôte [68], [69], [70]. Le canal du trayon représente le premier moyen de défense et est franchi par *S. aureus* lors de la traite, permettant ainsi la dissémination des bactéries à l'ensemble du parenchyme mammaire [68]. Après cette intrusion, la première étape dans la colonisation de la glande mammaire consiste en l'adhésion des *S. aureus* aux cellules de l'hôte et à la matrice protéique extracellulaire. Cet attachement permet aux bactéries de ne pas être évacuée par le flux physiologique et inverse du lait. Les *S. aureus* expriment de nombreux facteurs de virulence impliqués dans la phase d'attachement incluant notamment les protéines se liant à la fibronectine (FnBP), au fibrinogène (FgBP) et au collagène (Cna) ainsi que les clumping factor

(Clf) A et B, l'acide teichoïque et certains composants des biofilms [69], [70].

Après la phase d'adhésion, *S. aureus* synthétise et sécrète de nombreux facteurs, facilitant l'invasion et la pénétration du parenchyme mammaire, tels que des toxines (les hémolysines, les leucocidines) et des enzymes (sortase, protéase, coagulase, lipase, hyaluronidase) [71].

Enfin, l'évasion du système immunitaire implique de nombreux facteurs de virulence dont les toxines superantigéniques, la protéine A, la capsule polysaccharidique, la production de biofilms et la persistance intracellulaire de *S. aureus*. Les toxines superantigéniques, comprenant les entérotoxines et la toxine du choc septique (TSST-1), sont capables de lier directement le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de type II des cellules présentatrices d'antigènes aux récepteurs des lymphocytes T, provoquant une prolifération incoordonnée des lymphocytes T et une libération de cytokines pro-inflammatoires non spécifiques.

La protéine A inhibe l'opsonisation et la phagocytose médiées par les anticorps dirigés contre *S. aureus*, en fixant la fraction constante des immunoglobulines de type G (IgG) [69], [70]. La capsule polysaccharidique est exprimée durant la phase de croissance post-exponentielle.

En plus de faciliter l'adhérence de la bactérie aux cellules endothéliales, la capsule est capable d'interférer avec la phagocytose des *S. aureus* et pourrait masquer les antigènes de la paroi cellulaire. Cependant, bien que la majorité de souches de *S. aureus* humaines expriment une capsule, la production de celle-ci par les souches bovines semble plus variable, sous-tendant une moindre contribution de ce facteur dans la pathogénie et la chronicité des mammites à *S. aureus* bovines. De plus, l'absence de capsule, en augmentant l'internalisation des *S. aureus* à l'intérieur des cellules de l'hôte, pourraient faciliter la chronicité de ce type d'infection intramammaire [72].

4.3. La réponse immunitaire à *S. aureus* dans la glande mammaire :

La contamination de la glande mammaire saine par *S. aureus* induit une réponse inflammatoire. Des infections expérimentales ont montré que la réaction inflammatoire se déclenche, en fonction de la souche et de la taille de l'inoculum, en quelques heures à quelques jours après inoculation. Cette inflammation

déclenche le recrutement de polynucléaires neutrophiles puis de monocytes en masse, se traduisant par un comptage de CS dans le lait variable en fonction du temps mais dont la concentration peut dépasser le million de cellules par millilitre. La réponse inflammatoire de la glande mammaire est très variable en fonction du pathogène impliqué. Ainsi, les profils cytokiniques induits par des mammites à *S. aureus* ou à *E. coli* sont très différents. La réponse à *S. aureus* se caractérise par la synthèse de TGF- β et IL-8, des cytokines proinflammatoires [73].

Bien que participant à l'immunité de l'hôte, les réponses humorales sont pourtant limitées contre *S. aureus*. Le complément n'est pas bactéricide sur *S. aureus* et la lactoferrine est peu opérationnelle en milieu lait en raison des fortes concentrations en citrate [73]. Parmi les défenses solubles, les défensines sont des peptides inhibiteurs de pathogènes. De nombreux travaux ont identifié l'existence et l'expression de défensines bovines dans la glande mammaire. Parmi les défensines les mieux caractérisées dans la glande mammaire, on peut citer la « Tracheal Antimicrobial Peptide », la « Lingual Antimicrobial Peptide » ou encore la « Béta Defensin 5 » [73].

4.4. Epidémiologie :

4.4.1. Répartition géographique et prévalence :

Les mammites à *S. aureus* ont une répartition mondiale avec des prévalences différentes selon les régions. En Algérie plusieurs études ont été réalisées sur le sujet on cite : l'étude de Boufaïda et al., 2012 [74] : *Staphylococcus aureus* a prédominé les isolats dans 30% des cas. Saidi et al., 2013 [75] dans l'enquête réalisé au centre de l'Algérie : La prévalence des mammites à *S. aureus* était 40%. L'enquête réalisée par Benhamed dans la région d'Oran (2013) [76]: *S. aureus* était la cause principale des mammites cliniques 38, 98% des cas. Ait Kaki A. et al., 2019 [77] dans la wilaya de Bejaia : *S. aureus* représente 42,3% des cas de mammites sub-cliniques.

Au Sénégal la prévalence des mammites sub-clinique à *S. aureus* était de 13% [78]. En France une revue a été réalisée par Poutrel P. et al., 2018 [79] sur 11 publications durant la période de 1995 à 2012 a montré : les mammites cliniques causées par *S. aureus* présentent une prévalence de 7 à 18,9%, les

mammites sub-cliniques la prévalence était de 6,2 à 41%.

4.4.2. Source de l'agent pathogène et mode de transmission:

La principale source et réservoir d'infection à *S. aureus* est la peau des vaches infectées (pis en lactation). La présence des lésions au niveau du trayons ou la mamelle constitue des réservoirs importants pour ce germe, de même la présence de crevasse au niveau des manchons de la machine traite constitue aussi un réservoir bien identifié. Le *S. aureus* peut être isolé des sources environnementales dans les fermes. La génisse de remplacement peut être une source importante de *S. aureus* [48].

Les staphylocoques sont principalement transmis de pis à pis durant la traite, via la machine à traire ou les mains de l'éleveur. La transmission est également possible entre les animaux et les éleveurs. Bien que *S. aureus* puisse survivre quelques temps dans l'environnement, ce pathogène a besoin de coloniser l'animal pour assurer sa survie et sa multiplication, ce qui explique probablement pourquoi certains élevages n'ont pas de mammites à *S. aureus*. Si aucun animal du troupeau n'est porteur, il est peu probable que *S. aureus* vienne de l'environnement. En revanche, une fois qu'un des animaux du troupeau est contaminé, il y a des risques élevés pour que la bactérie soit transmise à d'autres animaux [48].

4.4.3. La formation de biofilm et le passage à la chronicité :

Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles. Les bactéries du biofilm peuvent résister à la réponse immunitaire de l'hôte et sont beaucoup plus résistantes aux antibiotiques et aux désinfectants que les cellules bactériennes planctoniques [80]

La formation de biofilm par *S. aureus* est considérée comme un facteur de virulence qui influence grandement la persistance de la mammite bovine et le passage à la forme chronique dans les 80% des cas [80], [81]. Le biofilm permet à *S. aureus* de résister à l'opsonisation par les anticorps et la phagocytose, ce qui explique le caractère chronique de ce type d'infection [82]. En plus, les bactéries à l'intérieur du biofilm sont moins sensibles aux antibiotiques par conséquent, très difficile à éliminer [83].

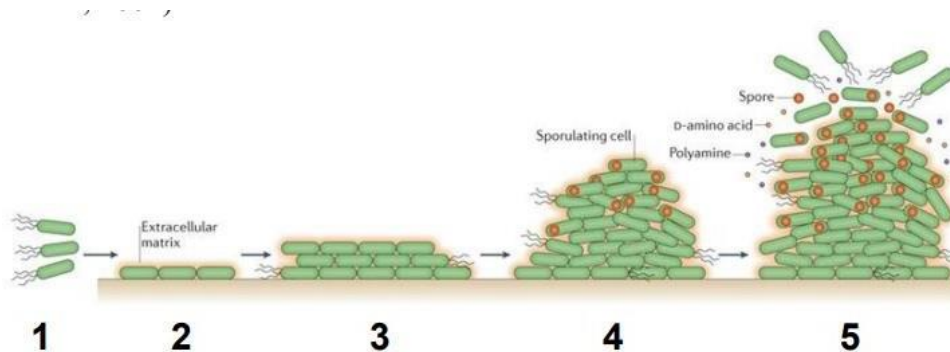


Figure 4.1 : Représentation schématique du processus de formation d'un biofilm [84]

1. Adhésion initiale à une surface biotique ou abiotique.
2. Formation de microcolonies.
3. Mise en place d'une communication de type quorum-sensing.
4. Maturation du biofilm et acquisition de son architecture tridimensionnelle.
5. Equilibre entre population de bactéries à l'état sessile et planctonique favorisant la dispersion et la colonisation de nouvelles niches.

4.5. Diagnostic des mammites à *S aureus* :

4.5.1. Diagnostic des mammites cliniques :

L'élément principal de la démarche diagnostic des mammites cliniques est l'examen clinique de la mamelle et les sécrétions mammaires. L'examen clinique repose sur la mise en évidence des symptômes généraux (baisse d'appétit, hyperthermie, abattement,...), locaux (rougeur, douleur, chaleur et tuméfaction) et fonctionnels (modifications d'aspect, de couleur et d'homogénéité du lait), ces signes sont d'intensité variable.

La contamination du quartier par *S. aureus* passe souvent inaperçue [78], [18]

4.5.2. Diagnostic des mammites sub-cliniques :

4.5.2.1. Le test CMT « california Mastitis test » :

Ce test s'effectue à l'aide d'une palette CMT et d'une solution tensioactive de Teepol® à 10%, contenant le pourpre de bromocrésol comme indicateur coloré. Après le mélange du lait à tester et du Teepol® à quantité égale et à température

ambiante, un léger mouvement circulaire est appliqué à la palette pour provoquer l'éclatement des cellules contenues dans le lait et précipitation de leur ADN sous l'action du détergent. En fonction de la consistance du flocculat qui se forme, la réaction est évaluée sur une échelle de 0 à 4 ; un résultat supérieur ou égal à 2 étant considéré comme positif ; celui égal à 1 douteux, et négatif celui correspondant au score égal à 0 [85].

4.5.2.2. Le comptage des cellules somatiques (CCS):

Le comptage des cellules somatiques se fait à l'aide d'un hématimètre de Thoma, d'un microscope optique et d'un compteur manuel. Le lait est dilué à 1/10, le nombre de cellules comptées dans les 16 carreaux que comprend l'hématimètre de Thoma correspond au nombre de cellules par microlitre de lait [86].

4.5.2.3. Le Taux Cellulaire du Tank (TCT) :

Le Taux Cellulaire du Tank donne une idée de la situation sanitaire du troupeau laitier. Il correspond en quelque sorte à une moyenne des Concentrations Cellulaires Somatiques Individuelles (CCSI) des vaches du troupeau. Il se détermine à partir d'un échantillon de lait prélevé directement à la sortie du tank, et est réalisé au minimum légal d'une fois par mois ; une détermination hebdomadaire (étant préférable) est souvent privilégiée par les laiteries.

Au seuil de 200 000 cellules/mL de lait on considère que 3 à 7% des quartiers sont infectés ; à 400 000 cellules/mL, 8 à 12%, et au-delà de 800 000 cellules/mL, 20 à 25% [18].

4.5.3. Diagnostic de laboratoire :

Le diagnostic bactériologique systématique d'un échantillon de lait devrait être la base de tout diagnostic. Il permet en effet d'établir avec précision l'espèce bactérienne impliquée et donc de mettre en place le traitement antibactérien adapté.

L'isolement de *S. aureus* ne nécessite pas l'utilisation des milieux avec des exigences particulières parce que ce germe tolère de grandes variations de conditions de croissance. Il pousse aisément sur les milieux usuels (ordinaires) en présence ou en absence d'oxygène (milieux aérobies et anaérobies). Sur un

milieu solide, il forme des colonies bombées, lisses, luisantes et plus ou moins pigmentées en jaune or ou orange d'où l'appellation de staphylocoque doré. En milieu liquide, il donne un trouble homogène, parfois un dépôt et un voile en surface.

Suivant les caractères cultureux et biochimiques des différents microorganismes contaminants contaminant le lait, exemple de *S. aureus*, l'organisation National Mastitis Council (NMC) a met un guide de référence, largement utilisé, permettant d'avoir consensus concernant l'utilisation des méthodes de diagnostics microbiologiques pour la détection des pathogènes causant des infections intramammaires menant à la mammite (NATIONAL MASTITIS COUNCIL 2004) [87].

CHAPITRE 5 : TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE

5.1. Traitement :

Les progrès de la médecine, surtout dans le domaine de l'antibiothérapie, a engendré une amélioration importante du contrôle de nombreux pathogènes. Cependant, la mauvaise gestion des antibiotiques dans le passé a causé l'émergence rapide de souches résistantes aux traitements et des souches capables de maintenir une infection et de persister malgré les défenses de l'hôte.

5.1.1. Période de traitement :

5.1.1.1. Traitement en période de tarissement :

Le tarissement est considéré comme une période de repos durant laquelle la vache ne produit pas du lait. Il est crucial pour la santé mammaire de la lactation suivante. Pendant cette période il y a une régénération du tissu mammaire avec l'opportunité pour guérir d'infections intramammaires. Il s'agit souvent d'infections subcliniques et chroniques développées pendant la lactation précédente, difficiles à traiter au cours de la lactation, et qui nécessitent le recours éventuel à des antibiotiques d'action prolongée qui diffusent bien dans la mamelle tarie. D'autre part, le tarissement est une période à risque pour le développement de nouvelles infections, majoritairement par des germes environnementaux, dont la plupart sera responsable de mammites cliniques et subcliniques dans la prochaine lactation [18].

L'utilisation des infusions intramammaires d'antibiotiques au moment du tarissement s'avère une pratique pouvant améliorer la guérison contre *S. aureus*.

5.1.1.2. Traitement en période de lactation :

Il est largement admis que les mammites cliniques à *Staphylococcus aureus* sont difficiles à guérir pendant la lactation. Les antibiotiques classiques administrés par voie galactophore seuls ou associés par deux ont une efficacité très variable. Les

taux de guérison bactériologique obtenus dans les essais cliniques dépassent rarement 50%, alors que le taux de guérison spontanée est de l'ordre de 25 % lorsque l'infection date de moins de 3 semaines [88].

Aucun traitement utilisé selon les directives des fabricants n'est réellement efficace et économiquement justifiable durant la lactation contre la mammite à *Staphylococcus aureus* [89]. Les traitements conventionnels homologués par voie intramammaire permettent rarement d'obtenir un taux de guérison supérieur à 20-40 % [90].

On conclusion on peut dire que les mammites causées par les staphylocoques constituent un grand problème même sous antibiothérapie. L'antibiothérapie n'est pas très efficace contre les staphylocoques, l'inefficacité peut résulter en partie du développement de résistance par certaines espèces, et en partie aux propriétés de persistance des staphylocoques comme la capacité de ces bactéries à envahir les cellules épithéliales intramammaires ce qui les rendent inaccessibles à la plupart des antibiotiques, et la capacité des staphylocoques à former un biofilm ou une capsule qui les protègent aussi contre les antibiotiques et le système immunitaire de la vache [91].

5.1.2. Le choix de la voie d'administration :

Pour traiter une mammite, un antibiotique doit pouvoir atteindre le lieu de l'infection à concentration efficace, et ce, pendant un temps suffisant. La capacité d'un antibiotique à atteindre le lieu de l'infection dépend majoritairement de sa voie d'administration, mais également de ses caractéristiques physico-chimiques. La concentration efficace est obtenue grâce aux CMI (Concentrations Minimales Inhibitrices) déterminées en laboratoire pour chaque antibiotique en fonction de la bactérie à éliminer. Elles correspondent à la concentration antibiotique la plus faible, capable d'inhiber la croissance d'une bactérie donnée. Le temps de contact entre antibiotique et bactérie dépend, quant à lui, de la galénique du produit administré [18].

5.1.2.1. La voie générale injectable :

La voie injectable est une voie d'administration plus utilisée pour le traitement des mammites clinique mais peu utilisée en cas des mammites subcliniques. En effet,

le sang et le lait sont deux compartiments distincts séparés par des membranes cellulaires. Pour passer de l'un à l'autre, l'antibiotique doit traverser la couche phospholipidique par diffusion passive, c'est à dire dans le sens de son gradient de concentration. Or, la capacité pour un antibiotique à diffuser à travers une membrane lipidique dépend de plusieurs facteurs :

- Sa taille : plus le principe actif est petit sa diffusion membranaire sera meilleure.
- Sa lipophilie : les membranes cellulaires étant de nature lipidique, la lipophilie du principe actif conditionne son passage dans la mamelle.
- Son état d'ionisation : les antibiotiques étant des bases faibles ou des acides faibles, ils se dissocient en phase aqueuse, en une forme ionisée et une forme non ionisée. La proportion en chacune de ces formes dépend de la différence entre le pH environnant et le pKa du principe actif. A pH égal au pKa, il y a autant de formes ionisées que de formes non ionisées. Seule la fraction non ionisée de l'antibiotique est lipophile, et a donc la capacité de traverser les membranes cellulaires par diffusion [18].

5.1.2.2. La voie Locale intramammaire :

La voie intramammaire est la voie à privilégier pour traiter une mammite surtout subclinique, en lactation comme au tarissement, puisqu'elle assure l'administration directe de l'antibiotique sur le lieu de l'infection. Les streptocoques vivent généralement en suspension dans le lait et sont donc éliminés facilement si l'antibiothérapie est administrée par voie intramammaire. Le staphylocoque doré, à l'inverse, peut s'internaliser profondément dans le parenchyme mammaire. Pour être efficace, l'antibiotique doit alors traverser les membranes cellulaires phospholipidiques par diffusion passive. La galénique a donc créé de nouvelles spécialités capables d'améliorer la pénétration du principe actif antibiotique dans le parenchyme mammaire [18].



Figure 5.1. Injection intramammaire [92].

5.1.2.3. Utilisation simultanée de la voie intramammaire et de la voie injectable :

L'utilisation simultanée de la voie intramammaire et de la voie injectable, est une pratique très courante en élevage bovin laitier. Cette technique permet d'augmenter les chances de guérison d'une mammite subclinique, et est principalement observée au tarissement.

Les taux de guérison ont varié en fonction de plusieurs paramètres :

- L'antibiotique utilisé et la durée du traitement.
- la période d'administration de l'antibiotique.
- L'âge de la vache.
- La chronicité de l'infection (augmentation du nombre de CCS et le nombre de bactéries)
- Le nombre de quartiers atteints [93].

5.1.3. Mécanismes de résistance développées par les *S. aureus* vis-à-vis des différentes classes d'antibiotiques :

Très peu d'étude ont été réalisées sur le sujet d'antibiorésistance en médecine vétérinaire. Plus de 50% de la masse totale d'antibiotiques utilisés provenait des pratiques vétérinaires et de l'agriculture, ce phénomène est d'autant plus

inquiétant lorsqu'il touche des bactéries d'origine animale transmissibles aux humains [94].

5.1.3.1. Les bêta-lactamines :

Les *S. aureus* sont naturellement sensibles aux bêta-lactamines dont :

- Pénicilline G 0,008 g/L (CMI moyenne)
- Oxacilline 0,25 g/L
- Cefalotine 0,25-0,5 g/L
- Cefotaxime 2 g/L
- Imipénème 0,12-0,25 g/L.

La résistance aux bêta-lactamines chez les *Staphylococcus* est principalement relié à la production de bêta-lactamases, et de façon secondaire à l'altération des PBPs et ou à l'acquisition de nouvelles PBPs [95]. Les souches de *S. aureus* résistantes aux pénicillines produisent des enzymes appelées pénicillinases qui font partie de la famille des bêta-lactamases. Lorsque cette enzyme est produite, il y a hydrolyse et destruction des liens amides du noyau β -lactame de la molécule qui devient alors inefficace. Selon leurs séquences d'ADN, les gènes codant pour les bêta-lactamases sont divisées en 4 classes, appelées les classes Ambler, allant de A à D. Elles peuvent également être divisées en 4 groupes selon le phénotype d'antibiorésistance qu'elles engendrent. Un de ces 4 groupes est quant à lui divisé en 8 sous-groupes, selon le schéma élaboré par Bush. Chez *S. aureus*, le gène codant pour la production de bêta-lactamases est bla₂. Les représentants des classes A, C et D sont des constituants du transposon Tn552 situé sur un plasmide de grande taille alors que ceux de la classe B sont situés sur un chromosome [95].

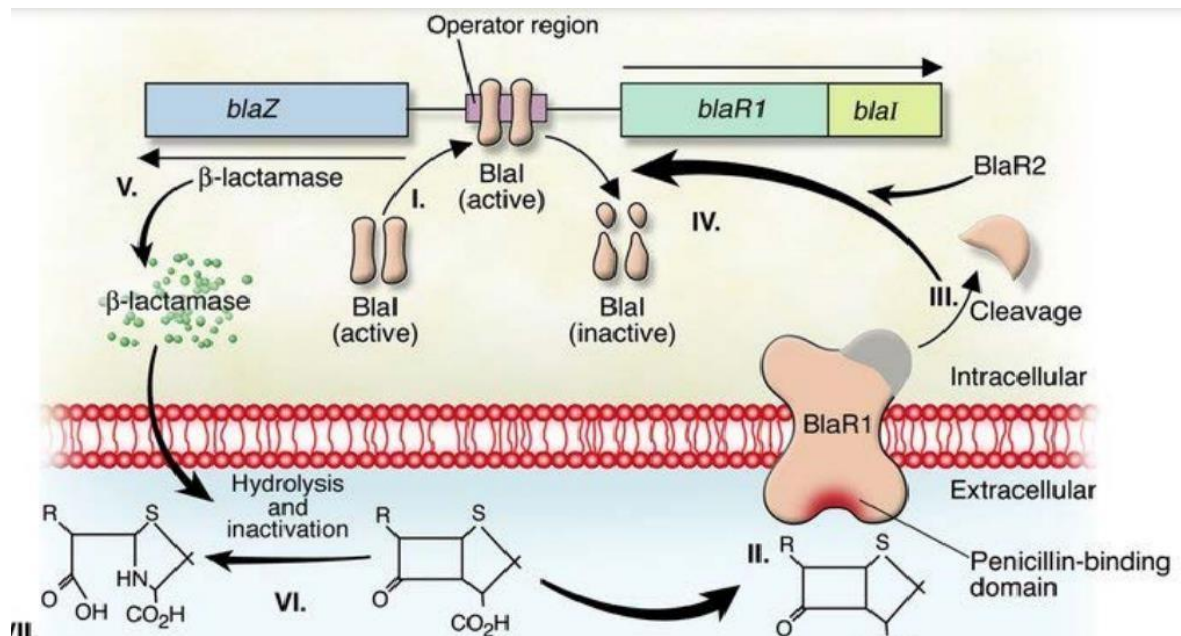


Figure 5.2 : Induction de la synthèse des bêta-lactamases chez les *S. aureus* sous l'effet de la pénicilline [96].

5.1.3.2. la Méthicilline :

La résistance de *S. aureus* à la méthicilline est due au gène *mecA* qui code pour la protéine « penicillin binding protein (PBP2a). Lorsqu'elles sont produites, les PBP2a remplacent les PBPs au niveau du peptidoglycan de la paroi bactérienne. Ayant moins d'affinité que les PBPs aux B- Lactamines, les PBP2a permettent aux *S. aureus* de survivre et donc de résister à des grandes concentrations de tous les antibiotiques de cette classe [97].

Les souches de *S. aureus* résistant au méthicilline (SARM) sont donc la plupart du temps résistantes aux B-lactamines, aux aminoglycosides, aux macrolides et aux tétracyclines. La rifampine ainsi que les quinolones et la combinaison triméthoprime-sulfaméthoxazole sont quant à eux généralement efficaces in vitro face aux SARM [97].

5.1.5.3. Les Aminoglycosides :

Les bactéries résistent aux aminoglycosides par le biais d'enzymes modifiant les groupements hydroxyles et amines de ces antibiotiques. Tout dépendant des modifications qu'elles induisent, ces enzymes souvent portées par des intégrons, se classent dans les aminoglycosides acétyltransférases (AAC), aminoglycoside adényltransférases (ANT) et aminoglycosides phosphotransférases (APH). Les

premières modifient le groupement amines et les deux dernières le groupement hydroxyl. En plus de ces enzymes, d'autres mécanismes de résistance comme les pompes à efflux et des mutations de l' ARNr existent [98].

5.1.3.4. Les tétracyclines :

La résistance est souvent de type plasmidique et interfère avec le transport actif de la molécule de tétracycline à travers la membrane interne de la cellule. Il y a également des systèmes de pompes à efflux et de protéines cytoplasmiques de protection du ribosome qui sont présents. Il y a 29 gènes tétracycline et 3 gènes oxytétracycline de répertoriés jusqu'à maintenant [99]. Les pompes à efflux sont des protéines associées à la membrane qui exportent les tétracyclines à l'extérieur de la cellule bactérienne. Cela diminue la concentration intracellulaire en antibiotiques et protège le ribosome.

5.1.3.5. Les macrolides et lincosamides :

Chez les *S. aureus*, la résistance aux MLS peut être constitutive, résistance à toutes les molécules du groupe, ou inductible, résistance aux macrolides uniquement. Un deuxième type de résistance aux MLS est constitué des pompes à efflux. Chez les *S. aureus*, les gènes *msrA* et *msrB* sont les principaux codant pour des pompes à efflux et sont portés par un plasmide. Ces gènes confèrent de la résistance aux macrolides ainsi qu'aux streptogramines de type B. D'autres gènes comme le *linA*, ont été identifiés chez les *S. aureus* et codent pour des nucléotidyltransférases conférant de la résistance aux lincosamides [98], [100]. Le gène *msrA* codant pour une pompe à efflux a rarement été détecté chez des staphylocoques d'origine animale, mais a été rapporté comme étant le troisième mode de résistance le plus fréquent après *ermA* et *ermC* chez des *Staphylococcus* d'origine humaine [95].

5.2. Prophylaxie :

Les méthodes de contrôle des infections mammaires de la vache laitière actuellement préconisées et utilisées visent à réduire la fréquence des nouvelles infections et leur persistance.

Le National Mastitis Council (NMC) a met en place des normes générales pour lutter contre les mammites :

Il est important de mentionner que le traitement des mammites cliniques est un des éléments du programme plus global de prévention de la mammite chez les vaches laitières. Un programme complet de la santé de la glande mammaire recommande l'incorporation des éléments suivants :

- Une hygiène sans compromis lors de la traite des vaches
- Un environnement propre et sec pour les taures et les vaches.
- L'évaluation et l'entretien périodique du système de traite et de ses composantes.
- L'utilisation d'une antibiothérapie pour toutes les vaches au moment du tarissement.
- La soumission d'échantillons de lait pour la culture bactériologique comme moyen diagnostique.
- La tenue de dossier pour les cas de mammites cliniques et l'utilisation du comptage de cellules somatiques comme moyen diagnostique de l'inflammation de la glande mammaire.
- La mise en place de pratiques de biosécurité contre les infections de la glande mammaire.

L'infection du pis des vaches par *S. aureus* est très difficile à éradiquer. En effet, les vaches atteintes d'une mammite causée par cette bactérie ne répondent pas très bien au traitement, ce qui permet aux bactéries de subsister dans le quartier infecté. Pour cette raison, en cas de renouvellement du troupeau ou pour but d'amélioration génétique il est important de suivre la stratégie d'achat suivante pour les vaches :

- Acheter des vaches auprès de troupeaux dont le CCS dans le réservoir à lait est continuellement de < 200 000 cellules/ml, ou acheter uniquement des génisses en gestation.
- Veiller à ce que chaque vache qui arrive ait un CSS de < 200 000 cellules/ml pendant toute la durée de sa lactation.
- Procéder à une culture du lait de quartier des vaches dès que possible après leur arrivée et considérer les animaux comme potentiellement infectés (les séparer des autres et les traire en dernier) jusqu'à ce que les résultats soient disponibles [101].

5.2.1. Hygiène de traite :

5.2.1.1. Hygiène avant la traite et préparation de la mamelle :

Les objectifs de cette étape sont :

- Diminuer la contamination des trayons. Le nettoyage et l'essuyage des trayons ont pour but de diminuer la charge bactérienne avant la pose des faisceaux. Ceci est essentiel à la lutte contre les infections intra mammaires et les spores butyriques.
- Déclencher le réflexe d'éjection du lait.

De nombreuses techniques sont disponibles pour nettoyer la mamelle :

- lavette individuelle.
- pré-trempage / pré-moussage et essuyage papier.
- autres techniques : lingettes pré-imprégnées, douchette, brosse mécanique, nettoyage à sec.

Le choix entre ces différentes techniques dépendra : des objectifs recherchés en matière de qualité du lait, de la fréquence de mammites, de la propreté des animaux, la simplicité, de la rapidité d'exécution et du coût de la méthode.

Principes généraux : Nettoyer toute la surface du trayon en insistant plus particulièrement sur l'extrémité. Ne pas déborder sur la mamelle. 15 à 20 secondes sont nécessaires pour assurer un bon nettoyage des trayons et favoriser l'éjection du lait. Même si les trayons semblent visiblement propres, il est impératif de les nettoyer sous peine d'augmenter la contamination du lait ainsi que le risque de mammites et cellulites. L'essuyage doit toujours être effectué avec une lavette, lingette ou papier individuel pour prévenir la transmission de bactéries lors de la traite.

5.2.1.2. Hygiène après traite :

L'objectif de la désinfection après traite est de détruire les germes présents sur la peau des trayons. Cette action désinfectante est essentielle pour prévenir les infections intra mammaires. En effet, à l'issue de la traite, les germes présents sur la peau peuvent pénétrer par le canal du trayon qui reste ouvert au moins une demi-heure après la traite.

Deux autres objectifs complémentaires peuvent exister :

Préserver l'état des trayons : l'action cosmétique permet de réduire les lésions des trayons (gerçures, plaies...) qui sont favorables à l'implantation et à la multiplication des bactéries.

Prévenir les contaminations entre traites par les germes d'environnement, notamment lors de dégradation des conditions de logement : les produits à effet barrière forment une pellicule à la surface du trayon constituant ainsi un obstacle mécanique à l'entrée de germes par le canal.

Technique : Qu'il s'agisse de post-trempe ou de pulvérisation, il est impératif de recouvrir toute la surface du trayon.

Post- trempe : Nettoyer à chaque traite le gobelet de post-trempe.

La pulvérisation : considérée comme plus rapide, ne permet généralement pas une application sur l'ensemble de la surface (juste une face traitée ou l'extrémité du trayon). Pour assurer une pulvérisation de qualité, recourir à des pulvérisateurs à jet vertical.

Il est impératif d'empêcher le couchage des vaches dans la demi-heure suivant la traite pour limiter l'entrée de germes par le canal du trayon.

Tableau 5.1 : Pouvoir désinfectant des principaux produits disponibles. [101]

produits	Bactéries	Champignon levure	Virus
Agents chlorés	+++	+++	+
Iode	+++	+++	+
Alcools	++	+/-	+/-
Chlorhexidine	+++	+	-
Acides organiques	++	?	?

5.2.2. Hygiène de lieu de traite et du trayeur :

Objectifs :

- Travailler dans les meilleures conditions d'hygiène possibles.
- Eviter de contaminer les mamelles par des germes qui peuvent pénétrer lorsque les sphincters sont ouverts.

Technique :

Avant la traite :

- Mouiller les quais avant l'entrée des animaux pour faciliter le nettoyage en fin de traite.
- Se laver les mains et les avant-bras avec soin, recouvrir les plaies des mains ou des bras avec un pansement étanche (présence de staphylocoques).
- Porter des vêtements de traite lavables et propres.
- Eventuellement, porter des gants propres jetables à changer à chaque traite.

Pendant la traite :

S'il y a des bouses, les évacuer immédiatement en évitant les projections intempestives, et laver quand le lot de vaches est sorti.

Se laver les mains et les avant-bras si nécessaire.





Après chaque traite :

- Racler et laver la salle de traite et les couloirs de retour.
- racler et laver l'aire d'attente afin de moins salir les quais.
- nettoyer en particulier l'extérieur des faisceaux trayeurs, les tuyaux longs à lait, la vaisselle de traite (gobelet de trempage, CMT, couvercle, bidon, etc.), ainsi que les plateaux de lavage. [102]



Figure 5.3 : Photos personnelles de l'opération de nettoyage de la machine à traire.

Tableau 5.2 : Principales lésions, causes pouvant touchés la mamelle et les
moyen de lutte. [103]

Lésion	Causes fréquentes	Moyen de lutte
 Congestion, œdème	Vide élevé et ou pulsation mal réglé.	Détecter les anomalies liées à la machine à traire.
 Gerçure, brulure, crevasse	Agression chimique Phénomène climatique (froid, coup de soleil)	Désinfecter les trayons après la traite avec un produit à action cosmétique. Attention aux interactions des produits d'hygiène.
 Blessures	Condition de logement et de pâturage. Accidents. Conformation de la mamelle	Identification et suppression des facteurs de risques. Intervention rapide du vétérinaire.
 Infection de la peau,	Virus Bactéries (exp : Staphylocoque)	Pas de traitement spécifique pour les virus. Agir sur les vecteurs de la contagion.

5.2.3. La vaccination :

Les buts visés par la vaccination lors des infections à *S. aureus* sont multiples et peuvent consister en :

- La diminution de la sévérité des symptômes cliniques.
- La réduction du taux cellulaire dans le lait.
- La réduction du nombre de cas de mammites à *S. aureus* au sein d'une exploitation.

Cependant, bien que les mammites bovines à *S. aureus* puissent ponctuellement prendre un caractère aigu voire suraigu, la majorité de ces infections ont fréquemment tendance à persister sous la forme de mammites chroniques et subcliniques. De part cette caractéristique majeure, l'importance de ces infections réside principalement dans le fait qu'elles sont à l'origine d'importantes pertes économiques. Au vu de l'aspect fortement contagieux de ce type d'infections, les objectifs principaux de la vaccination contre *S. aureus* consiste chez le bovin en la réduction du taux cellulaire des vaches atteintes et en la prévention de nouveaux cas de mammites à *S. aureus* au sein d'une exploitation [70].

La vaccination contre la mammite à *S. aureus* est étudiée depuis de nombreuses années pour but de prévention, mais aucun des vaccins étudiés à ce jour n'ont systématiquement empêché *S. aureus* d'installer.

Des études expérimentales ont montré que les bovins vaccinés avaient des scores cliniques inférieurs, des CCS inférieurs et moins de cas de mammite chronique. Deux modes d'immunisation sont possibles : l'une passive à l'aide d'anticorps mono- ou polyclonaux et l'autre active, à l'aide d'antigènes.

5.2.3.1. Vaccination contre la bactérie entière :

Le plus simple des vaccins consiste en l'utilisation de microorganismes entiers (atténués ou inactivés) ou de lysats produits à partir de ces derniers, associés ou non à des adjuvants. En médecine vétérinaire, l'utilisation de ce type de vaccins a été abondamment étudiée dans le cas des mammites à *S. aureus* et un de ceux-ci a été commercialisé à partir des années 1970 (Lysigin®, Boehringer Ingelheim) [10]

5.2.3.1.1. Vaccins atténués :

Différentes équipes à travers le monde ont mis au point des vaccins atténués contre *S. aureus*. Ce type de vaccination présente l'avantage de mimer une infection naturelle et d'inclure l'ensemble des éléments clés nécessaires à l'induction d'une réponse immune adaptative. Différentes techniques chimique, physique ou génétique, permettent d'atténuer les souches de *S. aureus* et d'en étudier leur pouvoir protecteur. Par exemple, une souche avirulente de *S. aureus* dénommée RC122 issue d'une souche pathogène de *S. aureus* RC108 a été mise au point [105]. Après immunisation de vaches vaccinées à l'aide de cette souche RC122, une augmentation significative de la réponse immune humorale spécifique a été observée par rapport au groupe d'animaux non immunisés. Cependant, après l'inoculation expérimentale de ces deux groupes à l'aide de la souche virulente RC108, la comparaison de la charge bactérienne et du taux cellulaire moyen présents dans le lait n'a pas révélé de différence significative entre les vaches vaccinées et contrôles [105].

5.2.3.1.2. Vaccin inactivés :

Une seconde grande classe de vaccins est formée par les vaccins inactivés. Dans ce type de vaccins, la bactérie perd tout pouvoir pathogène mais conserve ses antigènes de surfaces disponibles pour le système immunitaire adaptatif. Les vaccins tués ne sont généralement pas capables d'induire de réponse immune à médiation cellulaire (en particulier les lymphocytes T cytotoxiques). Par ailleurs, les vaccins inactivés nécessitent fréquemment l'administration concomitante d'adjuvant (tels que les sels d'aluminium ou l'adjuvant incomplet de Freund (FICA) afin d'augmenter leur pouvoir protecteur. Cependant, les vaccins inactivés et adjuvantés sont particulièrement efficaces pour induire une réponse humorale associée principalement à une sécrétion d'anticorps reconnaissant des épitopes localisés en surface des bactéries pathogènes [106].

Parmi les nombreux essais de vaccin inactivés contre *S. aureus*, la Lysigin®, est le premier et le seul vaccin commercialisé face aux mammites bovines à *S. aureus*. Il est composé de lysats issus de 5 souches de *S. aureus* exprimant les 3 types de capsules polysaccharidiques prédominants lors de mammites

bovines (type 5, 8 et 336) [107]. De nombreuses études ont évalué ce vaccin lors de mammites aiguës, démontrant la réduction des symptômes cliniques, une diminution des taux cellulaires individuels, ainsi qu'une augmentation des cas de guérison spontanée. Basé sur le fait que la Lysigin® est plus efficace lorsqu'il est administré à des génisses primipares avant le vêlage. Une étude consistant en l'infection expérimentale de génisses préalablement vaccinées, a permis de confirmer la réduction des symptômes cliniques observés lors des précédentes études [104]. Cependant, aucune différence n'a été observé tant au niveau des comptages individuels dans le lait que de la clairance bactérienne de la glande mammaire. La production d'immunoglobulines spécifiques a également été démontrée mais il ressort de cette étude que la concentration de ces anticorps dans le lait pourrait ne pas être suffisante pour permettre une protection contre *S. aureus* [70].

En Algérie la vaccination contre les mammites à *S. aureus* n'existe pas. Au Etats unis, il n'y a qu'un seul vaccin disponible dans le commerce (Lysigin, Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc) [92].

CHAPITRE 6 : PARTIE EXPERIMENTALE

6.1. Problématique:

La mammite est l'une des plus fréquentes maladies affectant les vaches laitières dans le monde [108], [109]. Elle se présente sous deux formes clinique et subclinique cette dernière forme est 15 à 40 fois plus fréquente que la forme clinique, Seegers et al., (2003). Le taux d'incidence des mammites cliniques varie de 13 à 40 % par ans dans différents pays et types d'élevage [110], [111].

Les effets négatifs comprennent de graves pertes de lait [112], diminution de la qualité du lait [113], augmentation des frais de traitement, travaux supplémentaires [114], et augmentation de la probabilité de décès et de réforme des vaches mammites [115].

Quel que soit clinique ou subclinique, la mammite est la principale cause d'utilisation des antibiotiques dans les élevages des bovins laitiers pour raison de prévention et le traitement des mammites [116].

La santé publique est potentiellement à risque d'un côté le problème de la résistance aux antibiotiques et d'autre côté la mammite peut transmettre des zoonoses et des maladies associées aux toxines alimentaires [117].

S. aureus représente l'un des pathogènes les plus problématiques, il peut causer des mammites cliniques et subcliniques. En effet, outre le caractère contagieux, l'une des spécificités des mammites à *S. aureus* est la chronicité de l'infection, pouvoir lié notamment à la capacité d'internalisation de *S. aureus* dans les tissus de l'hôte, la formation de biofilm protecteur, survivre dans les cellules épithéliales et les macrophages et la résistance aux antibiotiques. Le taux de guérison de ce type de mammites est faible par conséquent, la maladie n'a pas été efficacement éliminée et/ou contrôlés dans de nombreux troupeaux [118], [119].

En Algérie, différentes études ont été réalisées sur les mammites chez la vache laitière (détermination de la prévalence, les facteurs de risque, les germes en cause) notamment celles causées par *S. aureus* et sa résistance aux antibiotiques. Parmi les études les plus récentes on peut citer : MOULA (2022), wilaya de Bejaia, [7],

TABABOUCHET et MIMOUNE (2019) [8], BAAZIZE-AMMI au centre de l'Algérie, (2019) [9], KEBBAL et al (2020) [10], FARTAS , Souk Ahras (2021) BELMAMMOUN, (2016) [11], TAMENDJARI et al (2021) [120].

Néanmoins, une meilleure connaissance de cette pathologie est nécessaire pour développer des moyens de prévention et de contrôle efficace et adopter une stratégie de lutte adaptée à notre pays.

6.2. Objectifs :

La présente étude a pour but de :

1. Estimer la prévalence des mammites cliniques et sub-clinique chez la vache laitière.
2. Envisager les facteurs de risque favorisant la dissémination des mammites dans les élevages des bovins laitiers.
3. Mettre en évidence la prévalence des mammites cliniques et subcliniques causées par *staphylococcus aureus*.
4. Déterminer la sensibilité de *staphylococcus aureus*, isolés de mammites, aux différents antibiotiques.

6.3. Matériels et méthode :

6.3.1. La région d'étude :

L'étude a été menée dans deux provinces, Médéa et Blida, situées au centre de l'Algérie. Cette région a un climat méditerranéen avec un été sec et chaud et un hiver froid. Les températures varient de 30 à 40 C° en été et de 2 à 10 C⁰ en hiver. Les précipitations sont modérées, variant entre 400 et 600 mm par an.

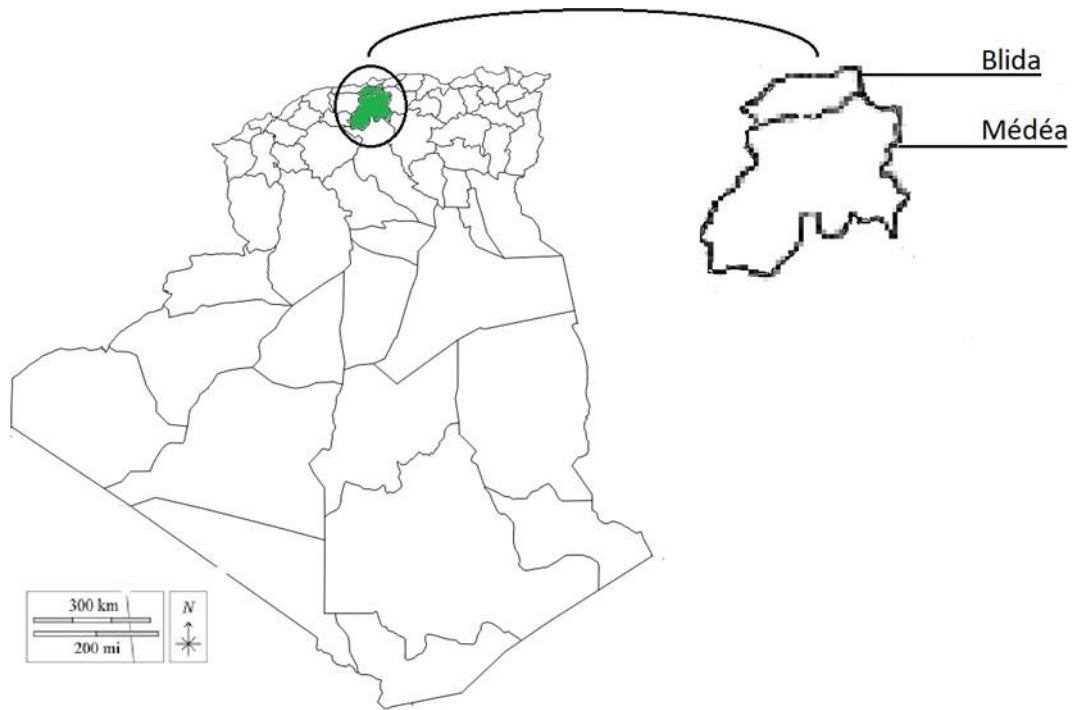


Figure 6.1 : Photos personnelle de la carte géographique montre la zone d'étude.

6.3.2. Echantillonnage :

Entre novembre 2018 et septembre 2019, 28 élevages de vaches laitières ont été visités dans les deux provinces pour collecter des données et des prélèvements du lait. Les fermes visitées ont été choisies par commodité. Seules les exploitations appartenant aux éleveurs qui ont accepté de participer à l'enquête sont incluses.

Les élevages visités étaient de type stabulation entravée, contenant 2 à 15 vaches de race locale, mixte ou améliorée, âgées de 2 à 10 ans.

6.3.3. Questionnaire :

Un questionnaire a été utilisé pour interroger les éleveurs inclus dans l'étude. Le but du questionnaire était de collecter des informations sur les facteurs de risque, tels que l'hygiène des mamelles et des pattes, le lavage de la mamelle, l'utilisation des serviettes pour sécher les trayons avant lavage, nettoyage des mains des trayeurs avant la traite, antécédents de mammite, taille du troupeau, utilisation de litière. Des informations propre à chaque vache prélevé : race, âge, parité, stade de lactation, numéros de lactation et rendement laitier. (Appendice B).

6.3.4. Prélèvement :

Les vaches ont d'abord été dépistées vis à vis des mammites cliniques avec l'aide de l'éleveur et par inspection visuelle et palpation de la mamelle. Les vaches atteintes de mammite clinique (8 vaches) ont été soumises à des échantillons de lait. Ceux qui ne présentaient aucun signe de mammite et un lait apparemment normal étaient éligibles pour le test CMT. Les quartiers ayant répondu positivement au test CMT (106 vaches) ont été prélevés de manière aseptique pour une culture bactériologique. Les échantillons ont été placés dans une glacière avec des poches de glace, puis transportés vers le laboratoire vétérinaire central (INMV, Alger) avant d'être congelés à -20 °C. Chaque prélèvement est accompagné par une fiche de commémoratifs (Appendice C).

Technique de prélèvement :

- Lavage des mains et port des gants.
- Lavage et séchage des trayons.
- Désinfection de l'extrémité du trayon avec du coton imbibé d'alcool à 70°.
- Elimination des premiers jets.
- Le flacon est maintenu incliné à 45° et le jet de lait est dirigé vers le flacon.
- Transport sous froid du prélèvement.

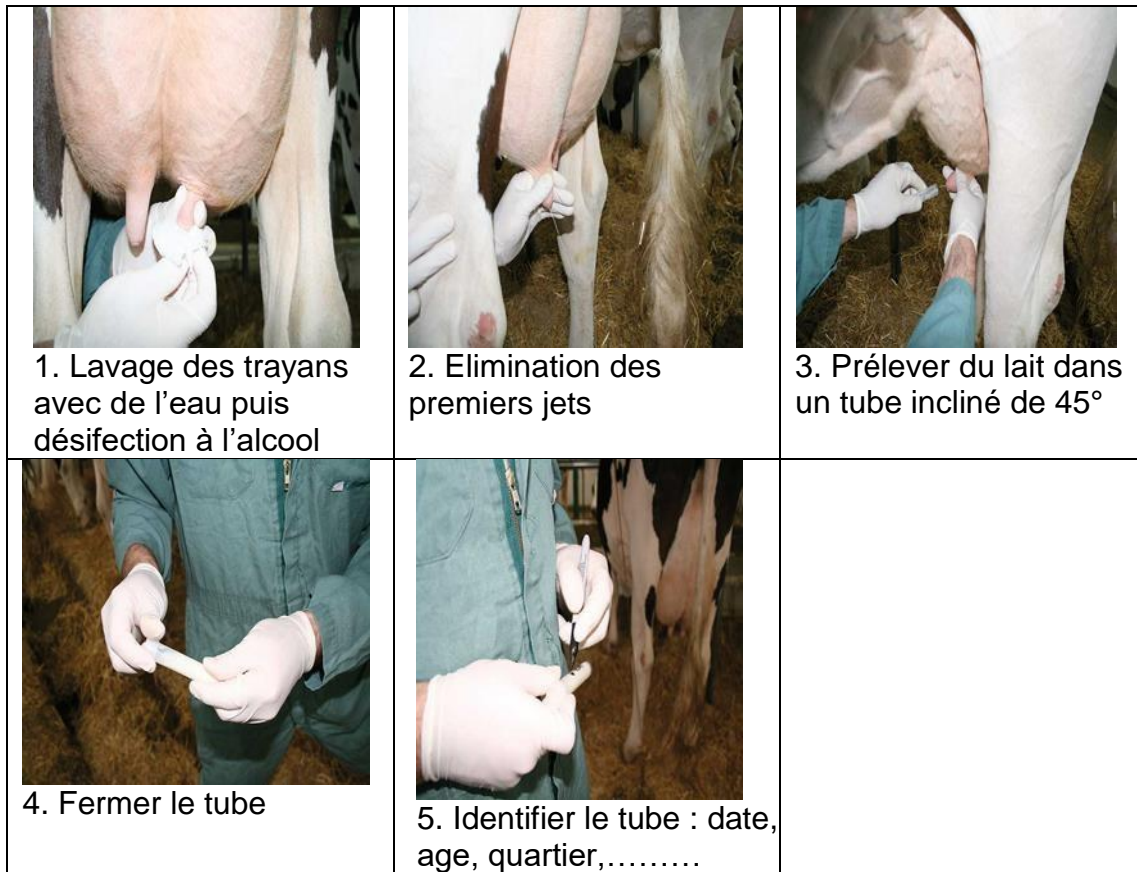


Figure 6.2 : Technique de prélèvement du lait.

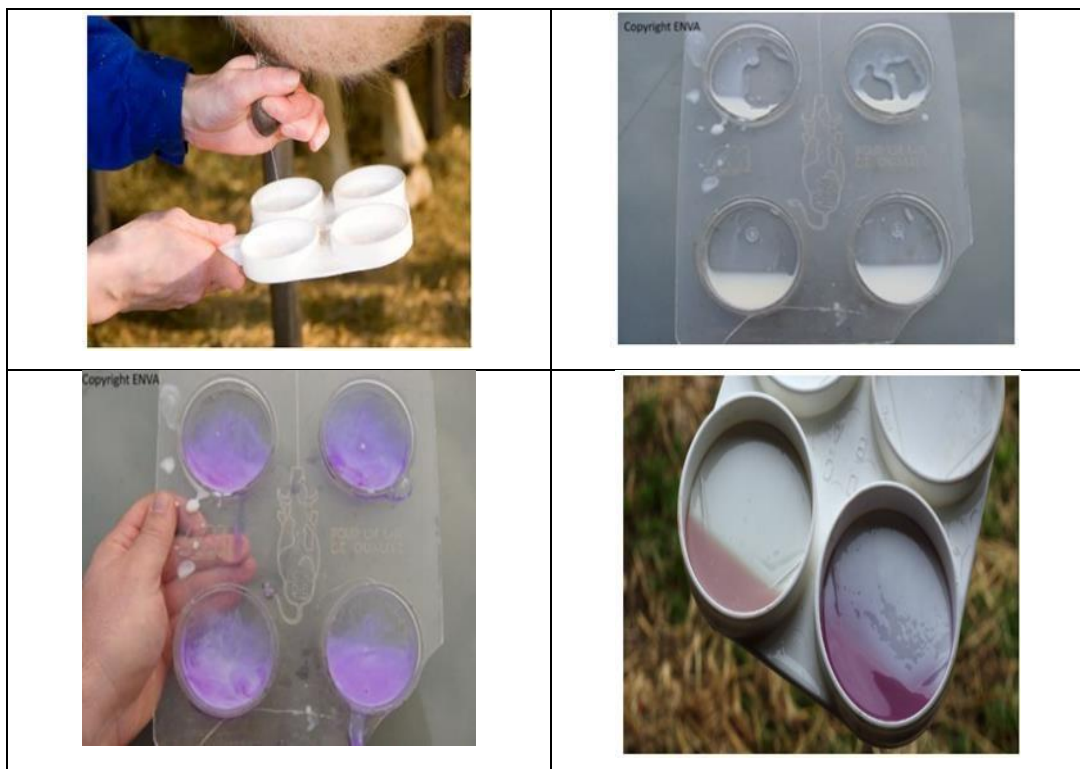


Figure 6.3. Technique de test CMT

6.3.5. Analyse de laboratoire :

6.3.5.1. Isolement et identification des *S. aureus* :

Les échantillons congelés ont été amenés à température ambiante (22-25°C) puis homogénéisés avec un mélangeur Vortex. La culture bactériologique a été réalisée conformément aux directives du National Mastitis Council. Environ 0,01 ml de lait a été cultivé sur un milieu gélosé au sang de mouton à 5 % et incubé en aérobie à 37 °C. Les boîtes de pétri ont été inspectées après 24 heures et les colonies ont été identifiées sur la base de leur morphologie, coloration de Gram et de leurs caractéristiques d'hémolyse. Sur la gélose au sang, *S. aureus* forment des colonies qui sont généralement pigmentées jaunes, lisses, toutes soulevées et hémolytiques.

Après la coloration de Gram les *S. aureus* apparaissent sous forme de coques Gram positifs en diplocoque, en chaine ou en grappe de raisin. Les *S. aureus* ont été examinées par la production de coagulase libre, ce dernier est réalisé en tube en mélangeant des cellules bactériennes dans un plus grand volume de plasma dans un petit tube à essai. Au fur et à mesure que les bactéries se multiplient dans le plasma, elles sécrètent de la staphylocoagulase qui réagit avec un facteur plasmatique de globuline (facteur de réaction de la coagulase) pour former la staphylothrombine (staphylocoagulase + prothrombine).

Les *S. aureus* ont été examinés aussi par le test catalase. Ce test est réalisé sur lame en mélangeant quelque colonie avec de l'eau oxygénée.

L'échantillon était perçu comme positif pour *S. aureus* lorsqu'au moins une colonie était identifiée comme *S. aureus* [121].

6.3.5.2. L'antibiogramme des *S. aureus* :

La méthode utilisée est celle de la diffusion en gélose utilisant des disques de papiers imprégnés d'antibiotiques et séchés, conformément aux recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [122].

Les antibiotiques testés sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 6.1 : Liste des antibiotiques testés, leurs abréviations, la charge des disques et la Concentration minimale inhibitrice (CMI). (CLSI) [122].

Antibiotiques	Charge du disque	Abréviation	CMI (mg/l)	
			cible	Limites acceptable
Pénicilline G	10 µg	PG	0,5-1	0,25-2
Amoxicilline + acide clavulanique	20/10 µg	AMC	-	-
Oxacilline	1 µg	OX	-	-
Céfoxitine	30 µg	FOX	2	1-4
Erythromycine	15 µg	E	0,5	0,25-1
Néomycine	30 µg	N	-	-
Gentamicine	10 µg	GM	0,25-0,5	0,125-1
Enrofloxacin	5 µg	ENR	-	-
Triméthoprim + sulfaméthoxazole	1,25/ 23,75 µg	SXT	≤0,5/9,5	-
Tétracycline	30 µg	TE	0,25-0,5	0,125-1
Vancomycine	30 µg	VA	1	0,5-2
Bacitracine	130 µg	BA		
Clindamycine	2 µg	CM	0,125	0,06-0,25

Tableau 6.2 : Sensibilité de *Staphylococcus aux antibiotiques* selon EUCAST [123].

Antibiotique	Disque	Sensible	Intermédiaire	Résistante
Pénicilline G	1 U	≥26	/	<26
Oxacilline	/	/	/	/
Céfoxitine	30 µg	≥22	/	<22
Gentamicine	10 µg	≥18	/	<18
Vancomycine	/	/	/	/
Erythromycine	15µg	≥21	/	<18
Clindamycine	2µg	≥22	/	<19
Tétracycline	30µg	≥22	/	<19
Triméthoprim sulfaméthoxazole	1,25- 23,75 µg	≥17	/	<14

Après 24 h d'incubation à 37°C, les résultats ont été interprétés selon les recommandations vétérinaires du Comité Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (AC-FSM VET, 2018). Et, les isolats ont été classés comme sensibles (S), intermédiaires (I) ou résistants (R). Les disques utilisés proviennent du laboratoire Biomerieux (France). La souche de référence *S. Aureus* (ATCC 29213) a été utilisée pour le contrôle de qualité.

6.3.6. Enquete par questionnaire

Un questionnaire, destiné aux éleveurs, a été élaboré afin de recueillir des informations sur les facteurs de risque favorisant la déssémination des mammites. Le questionnaire est composé de 08 questions ouvertes et à choix multiple (voir appendice B).

6.3.7. Analyses statistiques :

Toutes les données obtenues (questionnaire, examen clinique, CMT et culture bactériologique) ont été enregistrées sur Microsoft Excel® 2010. Les données ont ensuite été transférées vers SPSS Windows version 20.0 (SPSS Inc.,

Chicago, IL) pour un examen statistique. La prévalence de la mammite clinique et subclinique et la prévalence d'infection par les *S. aureus* ont été calculées à l'aide de la statistique descriptive. La relation entre les divers paramètres et résultats de l'examen clinique, le CMT et de l'analyse au laboratoire est réalisée avec le Chi carré (χ^2). Une régression logistique multivariée a été réalisée pour mesurer l'association entre les facteurs de risque les plus prédictifs et la mammite.

6.4. Résultats :

6.4.1. Prévalence des mammites :

Les 28 fermes visitées contenaient 224 vaches laitières. Le troupeau est considéré comme infecté lorsque au moins un cas détecté positif. Selon le diagnostic clinique et les résultats du CMT, la prévalence totale de la mammite (tout type confondu) chez les vaches dans la zone d'étude a été évaluée à 50,89 %. Les mammites cliniques et subcliniques ont une prévalence troupeau de 14,28 % et 82,14 % respectivement, et une prévalence individuelle de 3,57 % et 47,32 %. A l'échelle quartier, la prévalence de la mammite clinique et subclinique est évaluée à 1,92 % et 34,27 %, respectivement (tableau 6.3). La prévalence de la mammite subclinique est plus élevée à l'échelle troupeaux, individus et quartier que la mammite clinique.

Tableau 6.3 : Prévalence des mammites cliniques et subcliniques à l'échelle du troupeau, individuel et quartier.

Échelle	Taille de l'échantillon	Prévalence totale des mammites	Prévalence des mammites cliniques	Prévalence des mammites subcliniques
Troupeau	28	(24/28) 85.71 %	(4/28) 14.28 %	(23/28) 82.14 %
Individual	224	(114/224) 50.89 %	(8/224) 3.57 %	(106/224) 47.32 %
Quartier	881/896	(319/881) 36.2 %	(17/881) 1.92 %	(302/881) 34.27 %

6.4.2. Facteurs de risque des mammites :

Les résultats obtenus pour chaque question sont représentés dans les tableaux suivants :

Tableau 6.4 : Taille du troupeau

Taille du troupeau	Nombre d'élevage	Pourcentage
2 à 5 vaches	12 élevages	42,85 %
5 à 10 vaches	11 élevages	39,28 %
Plus de 10 vaches	5 élevages	17,85 %

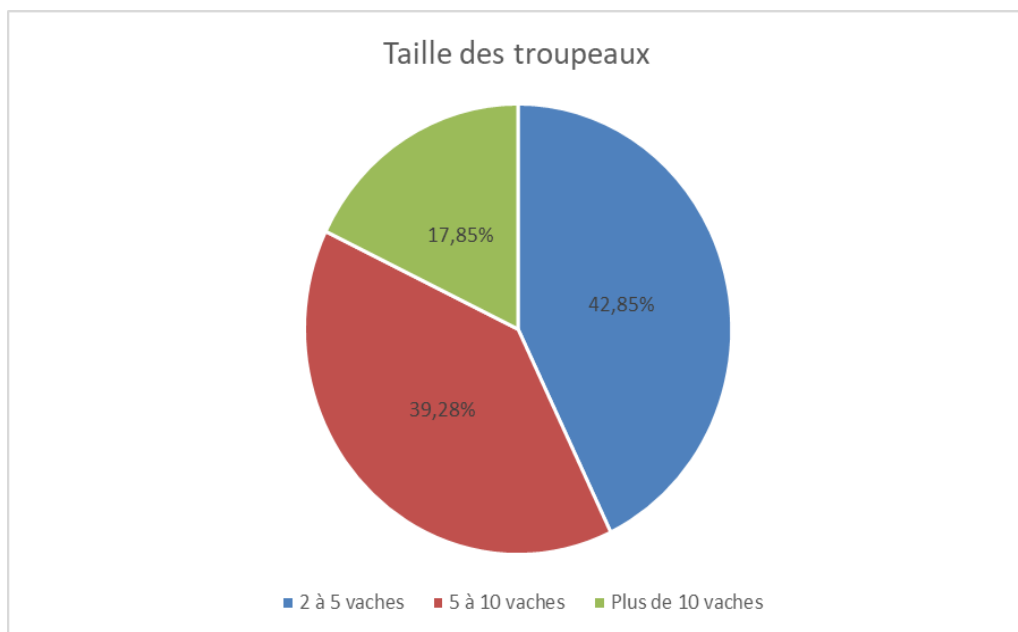


Figure 6.4 : Taille des troupeaux visités

La taille des troupeaux visités était en moyenne de 2 à 10 vaches.

Tableau 6.5 : Nature de la litière

Nature de la litière	Nombre d'élevage	Pourcentage
Paille	16 élevages	57,14%
Copeaux de bois	12 élevages	42,85%

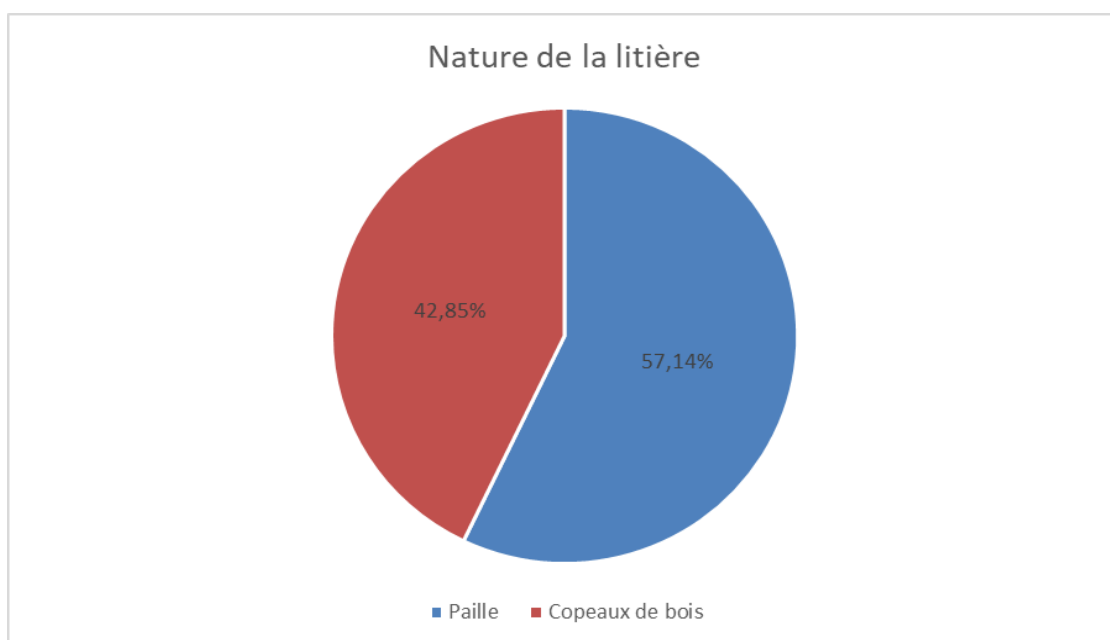


Figure 6.5 : Nature de la litière utilisée

Les résultats du questionnaire montrent que 57,14% des éleveurs utilisent de la paille comme litière, alors 42,85% des éleveurs utilisent les copeaux de bois.

Tableau 6.6 : Fréquence de paillage

Fréquence de paillage	Nombre d'élevage	Pourcentage
1 fois par jour	18 élevages	64,28%
2 fois par jour	8 élevages	28,57%
3 fois par jour	2 élevages	7,14%

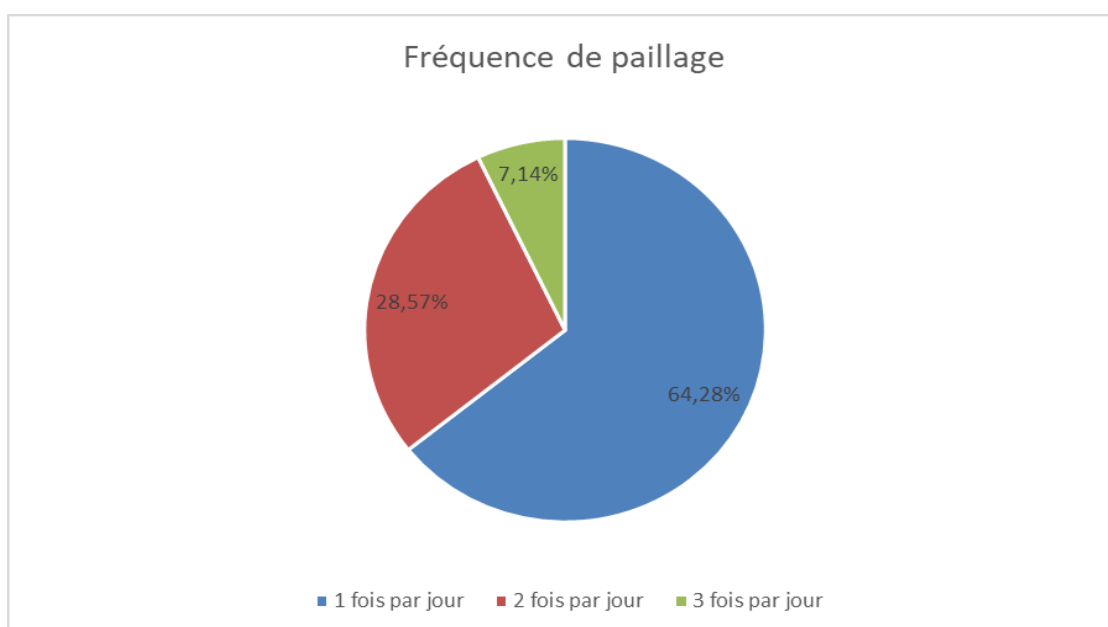


Figure 6.6 : Fréquence de paillage

La fréquence de paillage était 1 fois par jour dans 64,28% des cas, 2 fois par jour dans 28,57% et 3 fois par jour dans 7,14% des cas.

Tableau 6.7 : Fréquence d'enlèvement du fumier

Fréquence d'enlèvement du fumier	Nombre d'élevage	Pourcentage
1 fois par jour	19 élevages	67,85%
2 fois par jour	08 élevages	28,57%
3 fois par jour	01 élevage	3,57%

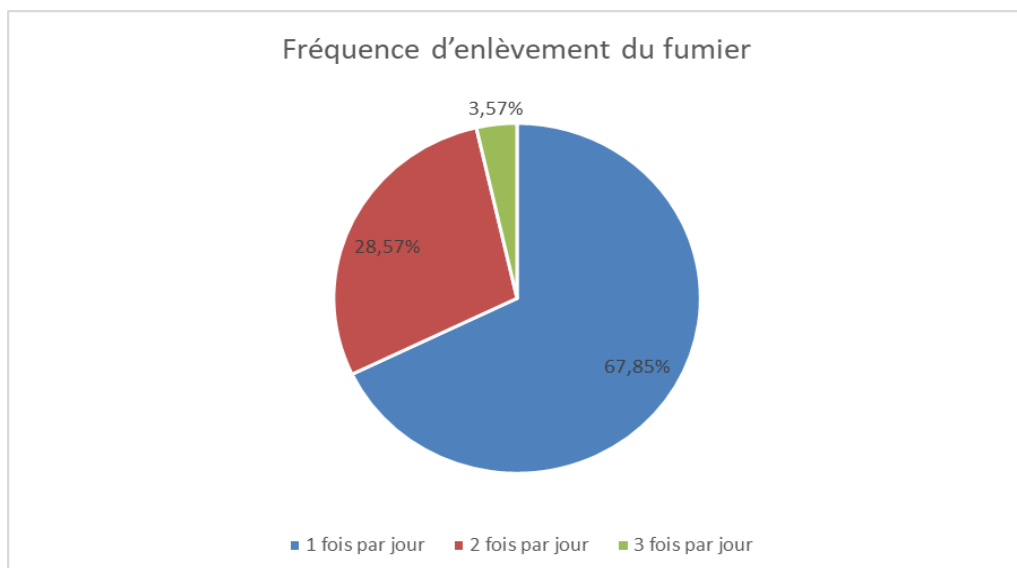


Figure 6.7 : Fréquence d'enlèvement du fumier

Les résultats indiquent que dans la majeure partie des cas (67,85%), le fumier est enlevé 1 fois par jour (le matin). 28,57% des éleveurs enlèvent le fumier 2 fois par jour (matin et soir) alors que 3,57% des éleveurs enlèvent le fumier 3 fois par jour (matin, à mi-journée et le soir).

Tableau 6.8 : Type de traite

Type de traite	Nombre d'élevage	Pourcentage
Manuelle	07 élevages	25%
Mécanique	21 élevages	75%

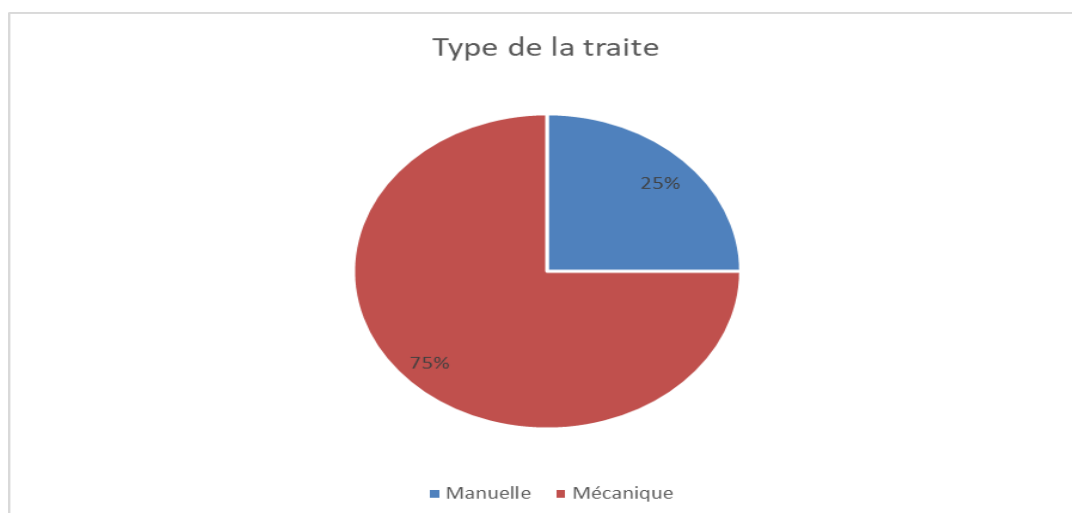


Figure 6.8 : Type de traite

75% des éleveurs enquêtés utilisent la traite mécanique, alors que 25% utilisent la traite manuelle.

Tableau 6.9 : Nettoyage des trayons avant la traite

Méthode utilisée	Nombre d'élevage	Pourcentage
Nettoyage avec de l'eau	28 élevages	100%
Nettoyage et séchage avec serviette	0 élevage	0%

Les éleveurs enquêtés nettoient la mamelle des vaches avant la traite avec seulement de l'eau.

Tableau 6.10 : La parité

Type de mammite	multipare	primipare
Clinique	6/8 (75%)	2/8 (25%)
Subclinique	93/106 (87,73%)	13/106 (12,26%)

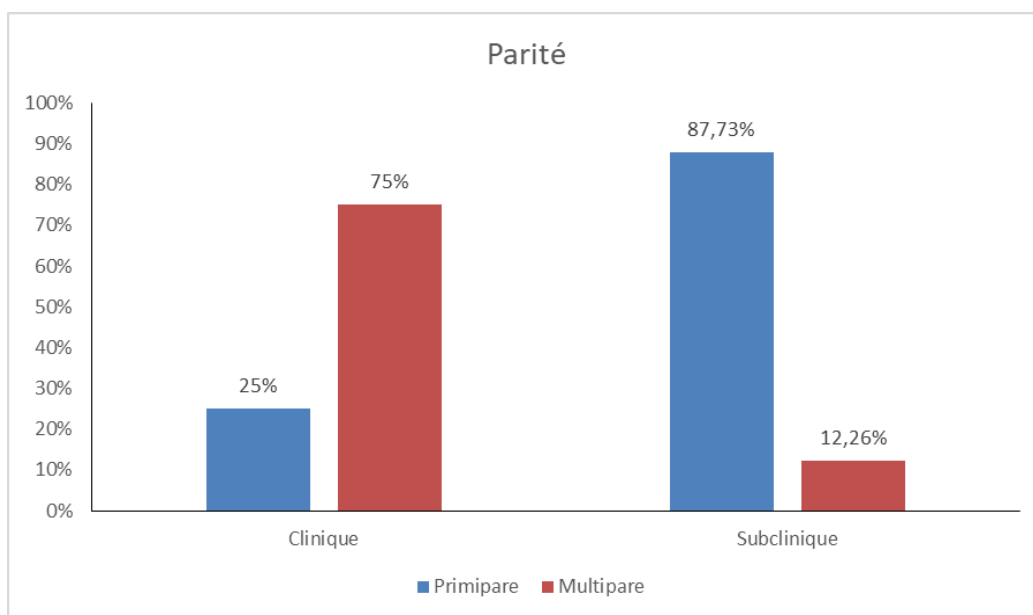


Figure 6.9 : Pourcentage des vaches prélevées selon la parité

Les résultats de l'examen clinique et le CMT montrent que 75% des vaches qui présentent des mammites cliniques et 87,73% des vaches qui présentent des mammites subcliniques étaient des femelles multipares.

Tableau 6.11 : Stade de lactation

Type de mammite	Lactation	Tarissement
Clinique	7/8 (87,5%)	1/8 (12,5)
Subclinique	97/106 (91,50%)	9/106 (8,49%)

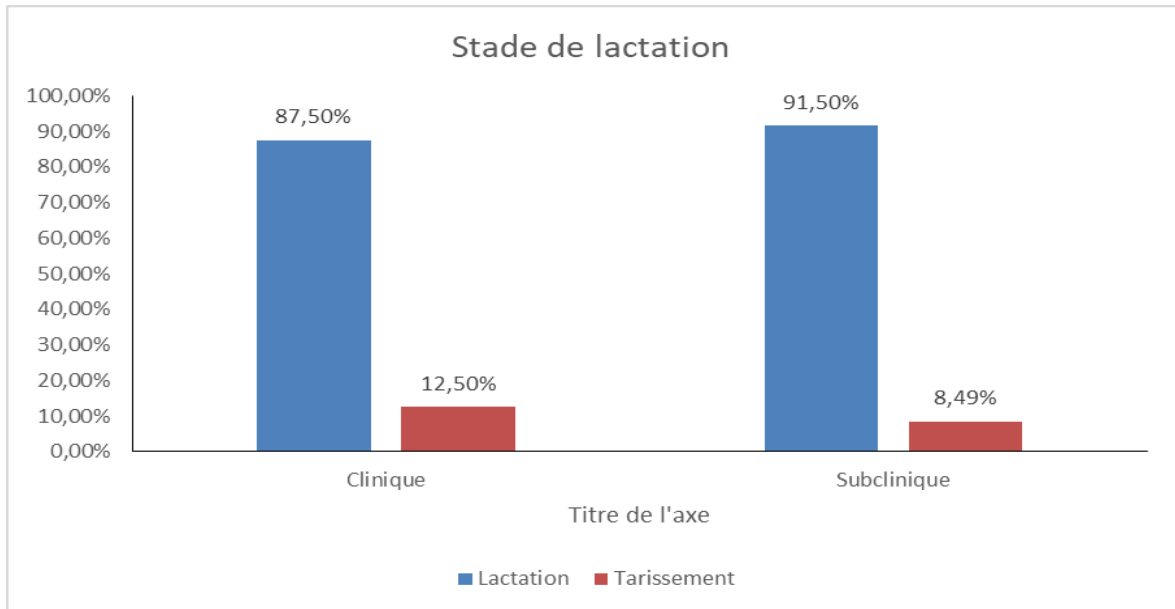


Figure 6.10 : Pourcentage des vaches prélevées selon le stade de lactation

87,5% des vaches présentant des mammites cliniques et 91,50% présentant des mammites subcliniques étaient en période de lactation.

Les élevages visités comportent des vaches âgées en moyenne de 2 à 5 ans, de race locale, mixte et améliorées. Pour la 7^{ème} et 8^{ème} question les éleveurs ont répondu que les mammites apparaissent d'une façon répétée chez les vaches multipares en stade de lactation dans la majeure partie des cas.

6.4.3. Résultats des analyses statistiques des facteurs de risque :

Dans l'ensemble, les quartiers postérieurs ont été beaucoup plus touchés que les quartiers antérieurs. Les quartiers postérieurs droits étaient significativement ($p < 0,001$) plus atteints par les mammites sub-cliniques que les quartiers antérieurs (gauche et droit), mais il n'y avait pas de variation significative entre les quartiers arrière gauche et droit ($p > 0,05$) (Tableau 6.12).



Figure 6.11 : Photo personnelle montre l'hygiène des pattes.



Figure 6.12 : Photo personnelle montre l'hygiène du pis

Tableau 6.12 : Fréquence des quartiers touchés selon la position.

quartier	Nombre testé	nombre positif	Prevalence (%)	χ^2	<i>P</i>
Postérieur droit	220	105	47.72	ref	
Postérieur gauche	218	98	44.95	2.5	0.101
antérieur droit	222	60	27.02	59.2	<0.001
Antérieur gauche	221	56	25.33	66.5	<0.001

Plusieurs facteurs de risque associés à la survenue des mammites ont été examinés dans l'analyse de régression logistique univariée. Parmi ces facteurs, l'hygiène du pis et des pattes, le nombre de lactations se sont avérés être significativement ($p < 0,05$) liés à l'existence de MC. L'hygiène du pis et des pattes, l'âge, la parité et le stade de lactation se sont avérés être significativement ($p < 0,05$) corrélés à la présence de MSC.

Pour l'analyse de régression logistique multivariée, seules les variables indépendantes sont incluses, à savoir la taille du troupeau, la race, l'utilisation de la litière, la parité, l'hygiène du pis et des pattes et le stade de la lactation. Les résultats ont révélé que, à l'exclusion de la race et la taille du troupeau ($p > 0,05$), tous les facteurs retenus avaient un rôle significatif dans la mammite sub-clinique ($p < 0,05$).

6.4.4. Prévalence des mammites causées par *S. aureus* :

S. aureus a été isolé chez 23,68 % (27/114) des vaches atteintes de mammite. L'isolement à partir des mammites cliniques et sub-cliniques était 12,5 % et 24,52

%, respectivement. Au niveau des élevages, *S. aureus* a été détecté dans 59,25% des élevages affectés de mammites tout type confondu, 25% des élevages affectés par des mammites cliniques et 65,21% des élevages affectés par la mammite sub-clinique (Tableau 6.5).

Tableau 6.12 : Taux d'isolement de *S. aureus* de mammite clinique et sub-clinique à l'échelle troupeau et individu.

	Échelle troupeau	Échelle Individu
Mammite clinique	(1/4) 25%	(1/8) 12.5%
Mammite sub-clinique	(15/23) 65.21%	(26/106) 24.52%
total	(16/27) 59.25%	(27/114) 23.68%

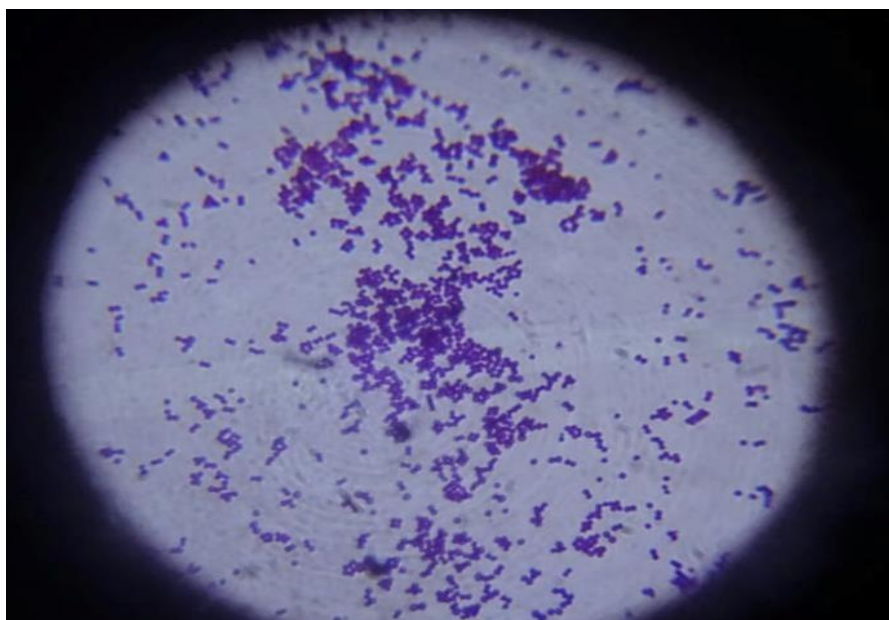


Figure 6.13 : Photo personnelle de *S. aureus* après coloration de Gram.

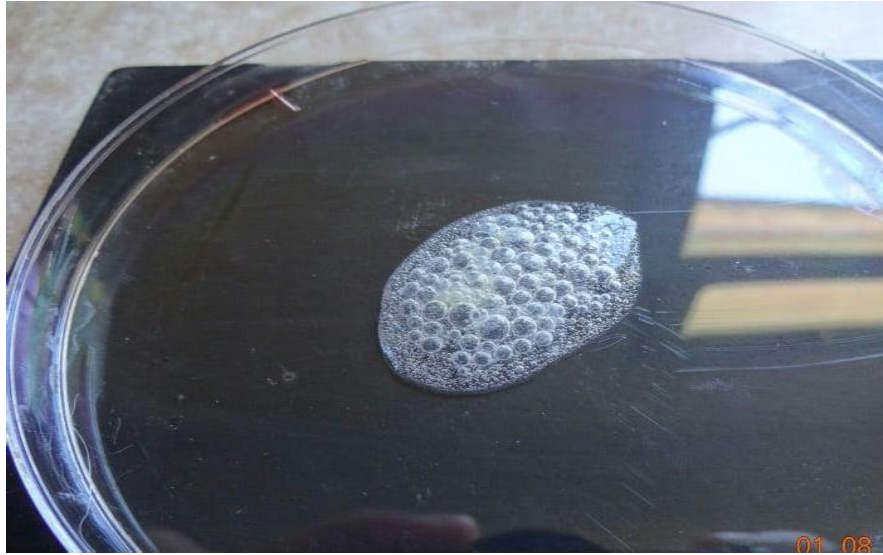


Figure 6.14. Photo personnelle de test catalase positif

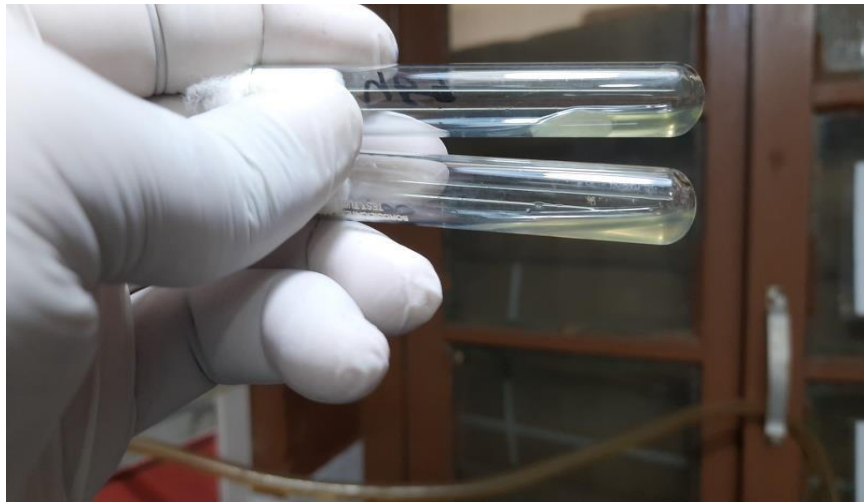


Figure 6.15 : Photo personnelle de test coagulase positif



Figure 6.16 : Photo personnelle de *S. aureus* sur gélose au sang.

6.4.5. Sensibilité des *S. aureus* aux antibiotiques :

L'antibiogramme a révélé une plus grande résistance in vitro à la pénicilline G (66,6%). En outre, 22 % des *S. aureus* isolés étaient insensibles à la plupart des antibiotiques testés, tandis que 78 % étaient résistants à au moins un antibiotique. 29,62 % des isolats étaient également résistants à la tétracycline, 18,51 % à l'érythromycine, 14,81 % au triméthoprim + sulfaméthoxazole, 11,11 % à l'enrofloxacin et 7,4 % à l'oxacilline. 3,7 % des isolats étaient résistants à l'amoxicilline/clavulanate. Aucune résistance n'a été observée à la clindamycine, à la néomycine, à la gentamicine et à la vancomycine.

6.5. Discussion :

Le diagnostic clinique et les résultats du CMT des 224 vaches laitières incluses dans la région d'étude, ont permis de déterminer une prévalence totale (50,89%) des mammites des deux types. La prévalence des mammites cliniques constatée dans notre étude (3,57 %) est très inférieure à la prévalence trouvée par Hocine et al., (9,8%) dans l'est de l'Algérie [123]. Alors que la prévalence des mammites subcliniques (47,32%) est plus élevée par rapport à celle révélée dans d'autres études dont la prévalence varie entre 25 et 40 % [53], [77], [91], [124], [125].

D'après SEEGERS et al (2003) [126], la forme subclinique est 15 à 40 fois plus fréquente que la forme clinique ce qu'on a démontré dans la présente étude 3,57% et 47,32% pour les mammites cliniques et subcliniques respectivement. Les animaux atteints constituent une véritable source d'agents pathogènes pour les autres animaux. La prédominance de la mammite subclinique dans les élevages est souvent due au manque d'attention des éleveurs à ce type de mammite, car les animaux atteints ne présentent aucun symptôme spécifique et produisent un lait d'aspect normal. Le fait que tous les éleveurs dans la zone d'étude n'appliquent pas un programme périodique de contrôle de la mammite, comme le CMT ou un autre test de dépistage, a entraîné une fréquence élevée de mammite subclinique.

En conclusion de cette partie, la prévalence élevée des mammites subcliniques 47,32%, indique le manque d'une part la connaissance des éleveurs de ce type de mammite vu que les vaches atteintes ne souffrent d'aucun symptôme et d'autre

part la sensibilisation de réaliser le CMT d'une façon périodique.

Le facteur de risque est défini comme étant un facteur qui augmente la probabilité d'apparition ou de développement d'une maladie. Les facteurs de risque liés aux mammites peuvent être de provenance, d'une part, des conditions d'élevage et de traite, et d'autre part, des caractéristiques morphologiques et hygiéniques des animaux [18].

Le questionnaire destiné aux éleveurs des vaches laitières des exploitations visitées montre que ces dernières comportent dans la majeure partie des cas de 2 à 10 vaches âgées de 2 à 5 ans. Notre résultat est proche de celui trouvé par KEBBAL et al. Dans l'enquête menée à Blida en 2020 [10]. Les vaches étaient de race locale, croisé ou amélioré, notre résultat est similaire aux résultats trouvés par BELHADIA et al. (2009) wilaya de Chlef [127].

Les analyses statistiques montrent que la taille du troupeau et la race n'ont pas un effet significatif sur l'apparition des mammites cliniques et subcliniques. L'âge s'avère significativement lié à la présence des mammites ($p < 0,05$).

Concernant la nature de la litière, 57,14% des éleveurs utilisent la paille contre 42,85% qui utilisent les copeaux de bois. Le questionnaire a montré que la fréquence de paillage était 1 fois par jour dans 64,28% des cas, 2 fois par jour dans 28,57% et 3 fois par jour dans 7,14% des cas. L'utilisation de la litière représente un autre facteur risque dont l'impact est significativement positif sur l'apparition des mammites.

Une bonne surface de couchage (qualité et quantité) constitue une barrière entre les agents pathogènes de l'environnement et la mamelle.

Ce résultat est rapporté par RADOSTITS (2007) [128] et confirmé dans notre étude et par ABEBE et al. (2016) (Ethiopie) [129].

En ce qui concerne la fréquence d'enlèvement du fumier, nos résultats indiquent que le fumier n'est enlevé qu'une fois par jour dans la majeure partie des cas (67,85%). La fréquence d'enlèvement du fumier reflète le niveau d'hygiène du pis et des pattes. Ces deux derniers facteurs de risque avaient un rôle significatif ($p < 0,05$) sur l'apparition des mammites des deux types.

Les quartiers postérieurs étaient significativement ($p < 0,001$) plus atteints par les mammites que les quartiers antérieurs (gauche et droit). Il n'y avait pas de variation significative entre les quartiers arrière gauche et droit ($p > 0,05$). Notre résultat est cohérent avec les résultats trouvés par Barkema et al. (2006) en Algérie [130] et par M'SADAK et al. (2017) en Tunisie [131]

Tous les éleveurs enquêtés (100%) utilisent l'eau pour nettoyer la mamelle avant la traite sans séchage avec une serviette.

75% des éleveurs pratiquent la traite mécanique et 25% pratiquent la traite manuelle. L'hygiène de la machine à traire se fait une fois à la fin de la traite. Nos résultats sont proches de ceux trouvés par KEBBAL et al. (2020) [10]

L'hygiène du pis et des pattes était un autre facteur de risque noté dans notre étude. Ce facteur de risque est directement lié au statut d'hygiène du sol et reflète le niveau de vigilance de l'éleveur quant à l'application des mesures de prévention relatives au contrôle de la mammite. Des résultats similaires ont été rapportés dans d'autres études [132], [133], [134], [135].

La morphologie de la mamelle et des trayons ont un impact sur la santé mammaire des vaches, cela peut-être expliquer par une mamelle basse est davantage exposée aux souillures et aux blessures donc la position déclive des quartiers postérieurs et la production plus élevée de lait par rapport aux quartiers antérieurs les rend plus exposés à l'infection et aux blessures [136].

La plupart des vaches qui présentent des mammites cliniques ou subcliniques étaient des femelles multipares en stade de lactation. Les analyses statistiques montrent un rôle significatif sur les mammites ($p < 0,05$).

L'augmentation du nombre d'expositions aux bactéries lors de la traite (nombre cumulé) des femelles multipares explique le rôle significatif de la multiparité sur la prévalence des mammites. Les vaches qui sont à la troisième lactation et plus ont une prévalence de 73% d'être atteints par les mammites. Notre résultat est similaire au résultat trouvé par NDAHETUYE et al. (2019) (Rwanda) [137].

La corrélation positive entre les mammites et le nombre de lactation a été confirmée par plusieurs auteurs [46].

Le traitement des facteurs de risques favorisant l'apparition des mammites a permis de déterminer les facteurs ayant une relation significative ($P < 0,05$) sur la prévalence des mammites à savoir : L'hygiène du pis et des pattes, la surface de couchage (utilisation de litière), le stade de lactation et le numéro de la lactation (parité). Dans la présente étude, la prévalence de l'infection par *S. aureus* est élevée dans les mammites cliniques (12,5%) et subcliniques (24,52%). Notre résultat d'isolement de *S. aureus* à partir des mammites subcliniques est proche de ce trouvé en Algérie par Belmammoun, 2016 [138] : (26,25%) en Turquie par Arslan et al., 2009 [139] : (25,66%), et (27,78%) en Inde par Chougule et al., 2014 [140]

Cela peut être justifié par la capacité de *S. aureus* à survivre dans le parenchyme du pis, le passage de l'infection à la chronicité (formation de biofilm), ou le caractère d'une infection latente capable de persister pendant la période de tarissement, difficile à traiter et à éradiquer du troupeau [82]. De même, des recherches antérieures menées en Algérie ont rapporté que *S. aureus* était l'agent pathogène le plus incriminé dans les mammites, le taux d'isolement variant de 30% à 74 % pour la mammite clinique [141], [142], [76] et de 4,5 % à 41 % pour la mammite subclinique [143], [74], [67], [53], [91].

S. aureus est le principal agent pathogène, cause des mammites cliniques et subcliniques chez les vaches laitières, dans de nombreuses régions du monde. Le taux arrive jusqu'à 40 % des cas de mammite [144]. En Tunisie [145], [146], [147]. Egypte [148], [149], Ethiopie [150], Rwanda [137].

Dans cette partie on a utilisé la bactériologie qui a donné une image précise sur l'état infectieux de la mamelle par la détermination de l'agent pathogène en cause. L'antibiogramme a révélé la résistance *S. aureus* à la pénicilline, le triméthoprime + sulfaméthoxazole, la tétracycline, l'érythromycine, l'enrofloxacin, l'oxacilline et à l'amoxicilline/clavulanate, avec des degrés variables. On a constaté que la résistance à la pénicilline G été de 66.6% proche des résultats trouvés en Turquie par ÖNCEL et al (2004) [151], et en France par BOTREL et al (2010) [152]. Notre résultat est inférieur aux résultats trouvés en Algérie par BELMAMOUN et al (2016) [138] (80,95%), en Malaisie par Jamali et

al (2014) [153] (86%).

Ces résultats peuvent être expliqués par l'usage répété pendant une longue période de ces antibiotiques, par les vétérinaires, pour le traitement des différents types d'infection ce qui a favorisé le développement de la résistance de *S. aureus* aux antibiotiques cités.

Cependant, l'absence de résistance vis à vis des Néomycine et Gentamicine n'était pas attendue étant donné que ces antibiotiques sont utilisés dans notre pays depuis de nombreuses années tant dans le domaine vétérinaire que pour la santé publique.

En accord avec ces résultats, d'autres études ayant été faites en Algérie ont apporté que *S. aureus* ont monté un niveau élevé de résistance à la pénicilline (80-100%). Le taux de résistance aux autres types d'antibiotiques (Tétracycline, érythromycine, clindamycine, vancomycine, enrofloxacin, cefoxitine et amoxicilline + clavulanate) est compris entre 10 et 40 % [142] [154]. Dans le monde, basant sur une étude menée par Molineri et al (2021) [155], sur la résistance antimicrobienne de *S. aureus* isolé de mammite bovine, la prévalence globale de résistance à la pénicilline est 45%, suivie de la clindamycine (14%) , érythromycine (8 %) et gentamycine (7 %). Le ceftiofur et la céphalotine ont révélé la plus faible prévalence de résistance aux antimicrobiens (RAM). Les continents qui affichent une RAM plus élevée étaient l'Afrique, l'Asie et l'Amérique latine [155]. L'antibiogramme a permis de déterminer le niveau de résistance de *S. aureus*, isolé des mammites, aux antibiotiques d'intérêt thérapeutique vétérinaire. Les résultats ont montré un niveau inquiétant de résistance.

CONCLUSION

La présente étude a révélé que la mammite, en particulier de type sub-clinique, est une maladie dominante dans nos élevages des bovins laitiers. Le défaut d'application des mesures de routine de contrôle de la mammite (prévention) associées à la présence des facteurs de risque (l'hygiène du pis et des pattes, litière de couchage, numéro de lactation) sont les principaux facteurs de risque favorisant l'installation des mammites.

Les analyses bactériologiques ont montré que *S. aureus* est l'un des principaux agents pathogènes responsables de la mammite. Il est isolé dans 12,5 % des cas de mammite clinique et 24,52 % des mammites sub-cliniques.

Les résultats de la sensibilité de *S. aureus* aux antibiotiques montrent un niveau alarmant de résistance aux antibiotiques d'intérêt vétérinaire principalement la pénicilline G (66,6%). Par conséquent l'administration des antibiotiques, en particulier la pénicilline et les médicaments apparentés, doivent être soigneusement pris en compte pour contrôler les mammites.

La santé de la vache en rapport avec les conditions d'élevage met en cause la prévention des maladies surtout infectieuses dont les mammites constituent l'entité pathologique la plus fréquente et la plus spécifique des bovins laitiers et le plus souvent favorisées par des conditions hygiéniques dégradées.

Par ailleurs la présente étude met l'accent sur la nécessité de mettre en place une stratégie de lutte contre les mammites principalement les mammites sub-cliniques et contagieuses, à fin de promouvoir nos élevages de bovins laitiers, diminuer les pertes économiques et améliorer la qualité du lait.

PERSPECTIVES

Pour des études ultérieures il serait envisageable de traiter les éléments suivants :

Evaluer l'état de résistance des *S. aureus* aux différents produits chimiques utilisés par les éleveurs (phénomène d'automédication par les éleveurs).

Tester la capacité antimicrobienne de certaines plantes médicinales afin de les utiliser comme alternatifs aux produits chimiques connus par leurs effets néfastes pour le consommateur et l'environnement malgré que l'antibiothérapie reste la solution de référence même si le taux de guérison, pour ce qui concerne les mammites à *S. aureus*, reste faible.

Evaluation de la réponse immunitaire innée des vaches atteintes des mammites par mesure de leurs réponses inflammatoires.

RECOMMANDATION

- Utiliser des techniques et des méthodes plus efficaces et faciles pour détecter les mammites et les germes en causes.
- Surveiller la résistance aux antibiotiques en médecine vétérinaire en appliquant l'antibiogramme comme une étape indispensable pour une antibiothérapie adéquate.
- Former des éleveurs en matière de pratique d'élevage (hygiène du pis avant et après traite, litière, hygiène du sol, entretien de la machine à traire,...).
- Séparation des vaches saines des vaches avec des taux élevés de cellules somatiques (après Identification) pour éviter la contamination en généralisant des tests de dépistage comme le CMT, CCS.

APPENDICE A

LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

CS	Cellule Somatique.
ML	Millilitre
CMT	Californian Mastitis Test
E. Coli	Escherichia coli
S.	Staphylococcus
Subsp.	sub-espèce.
CCS	Comptage des cellules somatiques
ORL	oto-rhino-laryngologie
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
g/L	gramme par litre
CMI	Concentration minimale inhibitrice
SARM	Staphylococcus aureus résistant au méthicilline
NMC	National Mastitis Council
C°	Degré Celsius
MM	Millimètre
PG	Pénicilline G
AMC	Amoxicilline + Acide Clavulanique
OX	Oxacilline

Fox	Céfoxitine
E	Erythromycine
N	Néomycine
GM	Gentamicine
ENR	Enrofloxacin
SXT	Triméthoprime + sulfaméthoxazole
Te	Tétracycline
Va	Vancomycine
Ba	Bacitracine
Cm	Clindamycine
g	Gramme
M€	Million euro

APPENDICE B

QUESTIONNAIRE AUPRES DES ELEVEURS

Date :

Elevage :

Région:

1. Taille de troupeau :

2. Nature de la litière :

- Paille
- Copeaux de bois

3. Fréquence de paillage :

- 1 fois par jour
- 2 fois par jour
- 3 fois par jour

4. Fréquence d'enlèvement du fumeir :

- 1 fois par jour
- 2 fois par jour
- 3 fois par jour

5. Type de traite :

- Manuelle
- Mécanique

Si manuelle : nettoyez-vous les mains avant la traite ?

Si mécanique : faites-vous entretenir régulièrement votre machine à traite ?

6. Quelle est la méthode utilisée pour le nettoyage des trayons avant la traite ?

- Nettoyage avec l'eau
- Séchage des trayons avec serviette après lavage

7. Est-ce que les mammites apparaissent d'une façon répétée ?

8. Information relative aux vaches prélevées:

8.1. Parité :

- Multipare
- Primipare

8.2. Stade de lactation :

- Lactation
- Tarissement

APPENDICE C

Commémoratifs de prélèvement

Date :.....

Région:.....

Elevage :.....

N° de vache

Numéro de lactation

Stade de lactation :.....

Race:.....

Propreté des membres postérieurs et de la mamelle :.....

Mammite clinique

Mammite sub clinique

Quartier :.....

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Aitken, S. L., Corl, C. M., Sordillo, L. M. "Immunopathology of mastitis: insights into disease recognition and resolution", *Journal of mammary gland biology and neoplasia* ", V.16, n°4, (2011), 291-304.
2. Cobirka, M., Tancin, V., Slama, P., "Epidemiology and classification of mastitis. *Animals*", 10(12), (2020), 2212
3. Peters, M. D. P., Silveira, I. D. B., Fischer, V., "Impact of subclinical and clinical mastitis on sensitivity to pain of dairy cows". *Animal*, 9(12), (2015), 2024- 2028
4. Rimoldi, S. G., Pileri, P., Mazzocco, M. I., Romeri, F., Bestetti, G., Calvagna, N., Cetin, I., "The role of *Staphylococcus aureus* in mastitis: A multidisciplinary working group experience". *Journal of Human Lactation*, 36(3), (2020), 503-509
5. Fournier, C., Kuhnert, P., Frey, J., Miserez, R., Kirchhofer, M., Kaufmann, T., Graber, H. U., "Bovine *Staphylococcus aureus*: association of virulence genes, genotypes and clinical outcome". *Research in veterinary science*, 85(3), (2008), 439-448
6. Putz, E. J., Palmer, M. V., Ma, H., Casas, E., Reinhardt, T. A., Lippolis, J. D., "Case report: characterization of a persistent, treatment-resistant, novel *Staphylococcus aureus* infection causing chronic mastitis in a Holstein dairy cow". *BMC veterinary research*, 16(1), (2020), 1-8
7. Moula, N., "Évaluation de la prévalence de la mammite subclinique chez les bovins laitiers dans la vallée de la Soummam (Bejaia, Algérie) ". In : 1er

séminaire international sur l'optimisation des performances de reproduction des animaux d'élevage, (2022).

8. Tababouchet, M., Mimoune, N., "Enquête sur les mammites chez les bovins en Algérie". Thèse de doctorat. École Nationale Supérieure Vétérinaire, (2019).
9. Baazize-Ammi, D., Gharbi, I., Dechicha, A. S., "Qualité bactériologique et sanitaire du lait cru de bovins des circuits direct et indirect dans la région centre de l'Algérie". Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires, V. 7, n° 2, (2019).
10. Kebbal, S., Baazize-Ammi, D., Gharni, I., "Étude descriptive des facteurs de risque des mammites et caractéristiques managériales des exploitations laitières de la wilaya de Blida (Descriptives study of mastitis risk factors and managerial characteristics of dairy farms in the wilaya of BLIDA) ". Revue Agrobiologia, V. 10, n° 1, (2020), p. 1975-85.
11. Fartas, A., "Étude technico-économique et rentabilité de l'élevage bovin laitier dans l'Est algérien". Thèse de doctorat. University Of Souk Ahras, (2021).
12. Hélène, J., Djiane J., "le développement de la glande mammaire et son contrôle hormonal dans l'espèce bovine", INRA production animale, V.1, n°5, (1988), 299 – 31.
13. Hanzen, Ch., "Physiologie de la glande mammaire et du trayon de la vache laitière", Faculté de médecine vétérinaire service thériogénologie des animaux de production, (2008-2009), 1 - 49.
14. Basset, L., "Imagerie de la mamelle chez la vache: radiographie, échographie, endoscopie". (2003). Thèse de doctorat. p23.
15. Lepage, PH., "Les cellules du lait et de la mamelle", J. N. GTV. INRA., Nantes/ (26 - 27- 28 Mai 1999), 7 – 13.

16. Couture, Y., Mulon, P.Y., "Procedures and surgeries of the teat". Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, V. 21, n° 1 (2005), 173 - 204.
17. Sordillo, L.M., "Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility", Livest. Prod. Sci. Seventh international Workshop in the Biology of lactation in farm animals, n° 98, (2005), 89 – 99.
18. Remy, D., "Les mammites : hygiène, prévention, environnement", Edition : France Agricole, (2010).
19. Faroult, B., "Les mammites subcliniques et les mammites cliniques aiguës. Maladies des bovins", 3^{ème} Edition France Agricole (2000), 64-75
20. Constant, F., "Ethiopathogénie des mammites", unité de reproduction bovine de l'ENVA, (2015).
21. Meissonnier, E., "Infection par les bactéries Coliformes en période de tarissement chez les vaches laitières", n°4, (1995), 9 – 16.
22. Bradley, A., "Bovine mastitis: an evolving disease". Vet J, 164, (2002), 116-28.
23. Lebreton, P., Berthelot, X., Petit, C., "Connaissances fondamentales. Les infections mammaires de la vache laitière", (1990), 1- 49.
24. Rainard, P., Riollot, C., "Innate immunity of the bovine mammary gland", Vet. Res., V. 37, n° 3, (2006), 369 – 400.
25. Argente, G., Lardoux, S., Le Berre, K., Labbe, J.F., "Valeur de l'observation clinique de symptômes simples de mammites pour prédire les bactéries en cause", Bull. Croup. Tech. Vet., V. 23, (2005), 39 – 46
26. Seegers, H., Menard, J.L. Fourichon, C., "Mammites en élevage bovin laitier, importance actuelle, épidémiologie et plan de prévention", Rencontre Rech. Ruminants, V.4, (1997), 233 – 242.

27. Schukken, Y., Poirier, H., "Qu'est-ce que la mammite ? " Réseau canadien de recherche sur la mammite bovine, (2012), 40 – 42.
28. Blowey, R., Edmondson P., "Mastitis control in dairy herds", 256 pages, Kindle Edition, Londres, (2010).
29. Viguier, C., Arora, S., Gilmartin, N., Katherine, Welbeck, K., O'Kennedy, R., "Mastitis detection: current trends and future perspectives", Elsevier, Trends in Biotechnology, V.27, n°8, (2009), 486 – 493.
30. Coullioud, Martel JL., Brouillet P., Fedida M., "Identification et sensibilité aux antibiotiques de diverses espèces de staphylocoques associées à des mammites bovine inapparentes et subcliniques", Revue. Méd., Vet., (1991), 42 :39-47.
31. Raboisson, D., Ferchiou, A., Pinior, B., "The use of meta-analysis for the measurement of animal disease burden: losses due to clinical mastitis as an example". *Frontiers in Veterinary Science*, V. 7, (2020), 149.
32. Debreil, E.F.J.B., "Les analyses bactériologiques du lait des infections mammaires bovines applicables au cabinet vétérinaire en pratique courante et leurs intérêts dans le traitement des mammites", Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. ENV D'Alfort, (2008).
33. Erskine, R., "Philosophical approach to antibiotic therapy: Know the cow, bug and drug". Proceedings of annual meeting of the national Mastitis Council : (2004), 8 – 11.
34. Hanzen, Ch., "La pathologie infectieuse de la glande mammaire". Etiopathogénie et traitement". Approche individuelle et de troupeau, (2009 – 2010), 1 – 63p.

35. Wenz, J.R., Barrington, G.M., Garry, F.B., "Use of systemic disease signs to assess disease severity in dairy cows with acute coliform mastitis", *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, V. 218, (2001), 567 – 572.
36. Nicol, J.M., Theron, L, Hanzen, Ch. "Clinique vétérinaire universitaire, Service de Thériogénologie", *Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège, Vétro focus.* (2011)
37. Poutrel, B., "Généralités sur les mammites de la vache laitière", *Processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthode de contrôle, Rec. Med. Vet.*, n° 161, (1985), 497-511.
38. Dufour, S., "La mammite subclinique, il faut le voir pour le croire", *réseau canadien de recherche sur la santé bovine*, (2008), 1 – 29.
39. Rupp, R., Boichard, D., "Comment améliorer la résistance génétique aux mammites chez les bovins laitiers en France par sélection", *Bul. GTV.* n° 12, (2001), 47- 51.
40. Bradley A.J., Leach K.A., Breen L.E., Green M.J., "Survey of the incidence and eathiology of mastitis in dairy farms in England and Wales", *Vet. Rec.*, V.160, (2007), 253-257.
41. Poutrel B., "La sensibilité aux mammites", *revue des facteurs lié à la vache. Rech. Vet.*, n°14, (1983), 89-104.
42. Slettbakk, T., Jorstad, A., Farver, T.B., Holmes, J.C., "Impact of milking and morphology of udder and teats on clincal mastitis in first and second lactation Norwegian cattle", *Prev. Vet. Med.*, (1995), 235-244
43. Hanzan, CH., Pulvinage PH., "La pathologie infectieuse de la glande mammaire", (2008).
44. Descoteaux, L., " La mammite clinique : stratégie d'intervention", *symposium sur les bovins laitiers, CRAAC*, (2004), 1 – 24p

45. Durel, L., Hugues, G., Léonard, T., "Mammmites bovine", Vade. Mecum. Edition Med'com.V. 270, (2011), 18 - 218.
46. Hanzen, Ch., "Propédeutique de la glande mammaire sémiologie et diagnostic individuel et de troupeau, Approche individuelle", Université de Liège, Belgique, (2009).
47. Tchesnokova, V. L., Rechkina, E., Chan, D., Haile, H. G., Larson, L., Ferrier, K., Sokurenko, E. V., "Pandemic uropathogenic fluoroquinolone-resistant Escherichia coli have enhanced ability to persist in the gut and cause bacteriuria in healthy women", Clinical Infectious Diseases, V.70, n°5, (2020), 937-939
48. Durel, L., "La dépêche technique, mammmites des bovins (cliniques et subcliniques) : démarches diagnostic et thérapeutique", (2004), n° 87, 30p.
49. Eichr, L., "Contrôler les mammmites à Staphylococcus aureus", le point vétérinaire, (2003), 33(228) : 50-54.
50. Sears, P. M., Mccarthy, K. K., "Management and treatment of staphylococcal mastitis. Veterinary Clinics of North America": Food Animal Practice. (2003): 19 (1), 171-185.
51. Faroult, B., Arzul, P., "Tarisement des vaches laitières : approche sanitaire et ootechnique". Supplément technique n°95 de la dépêché vétérinaire (2005). 35 pages
52. Francoz, D., Roy, J.P., Labrecque, O., "Les mammmites à mycoplasmes chez les bovins" : page 23. actualités sur une infection en pleine progression. Bulletin GTV, (2007), 39.
53. Saidi, R., Khelef, D., Kaidi, R., "Subclinical mastitis in cattle in Algeria: Frequency of occurrence and bacteriological isolates", Journal of the South African Veterinary Association, V. 84, n°1, (2013), 1-5.

54. Theron, L., Pluvinage, P., Serieys, F., Hanzen Ch., "Mammmites bovines à pathogènes inhabituels, comment les gérer au niveau individuel et du troupeau ? ", bulletin des gtv - n°54, (JUIN 2010), 41- 52.
55. Spicer, W. J., "pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie", Médecine science. Flammarion Printed in France, V. 2, n°616, (2003), 479 – 2p
56. Loir, Y., Gautier, M., "Staphylococcus aureus", Monographies de microbiologie", collection dirigée par Jean- Paul Larpent, Edition : LAVOISIER, (2010) Paris, 1- 226 p
57. Lavigne, J.P., Staphylocoques, www.answersingenesis.org/articles/aid/v4/nL/genesis-of-mrsa medical.blogspot.fr (2012)
58. Kloos, W.E., "The prokaryotes", 2e ed, A. Balows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder et K.H. Schleifer (éd), Springer-Verlag, Berlin, (1992), 1369-1420 p.
59. De Buyser, M.L., Sutrat, L., "Bactériologie alimentaire, compendium d'hygiène des aliments", sous la direction de Federighi M., Edition : ECONOMICA, Paris (2005)
60. Debarras, C., "Pratique en microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levures-moisissures", 2014. Lavoisier, Paris, n° 2, (2014), 65-120, n° 6, 233-353, n°13, 595-648.
61. Béraud, J., "le technicien d'analyses biologiques, guide théorique et pratique", LAVOISIER (2004), Paris, 964 - 971 p.
62. Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., Maguire, D., "Clinical veterinary microbiology", second Edition MOSBY Elsevier, n°7, (2013).
63. Fauchère, J. L., Avril, J. L., "Bactériologie générale et médicale", Ellipses Edition Marketing S. A., Paris, n° 13, (2002), 212 – 219.

64. Nauciel, C., Vildé, J. L., "Bactériologie Médicale", Masson, Paris, n° 13, (2005), 77 – 81.
65. Rainard, P., Riollet, C., "Innate immunity of the bovine mammary gland", *Vet. Res.*, n° 37, (2006), 369-400.
66. Strandberg, Y., Gray, C., Vuocolo, T., Donaldson, L., Broadway, M., Tellam, R. , "Lipopolysaccharide and lipoteichoic acid induce different innate immune responses in bovine mammary epithelial cells ", *Cytokine.*, n° 31, (2005), 72-86.
67. Wallemacq, H., Girard, B., Lekeux, P., Bureau, F., "La vaccination contre les mammites à *Staphylococcus aureus* chez la vache laitière", *Ann. Méd. Vét.*, n°154, (2010), 16-29.
68. Kerro Dego O., Van dijk J., Nederbragt H., "Factors involved in the early pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis with emphasis on bacterial adhesion and invasion": a review. *Vet. Q.*, (2002), 24 : 181-198.
69. Foster, T., "Immune evasion by staphylococci". *Nat. Rev. Microbiol.*, (2005), 3 : 948-958.
70. Middleton, J.R., "Staphylococcus aureus antigens and challenges in vaccine development". *Expert Rev. Vaccines*, (2008), 7 : 805-815
71. Oviedo-boyso, J., Valdezalarcón J., Cajerojuárez M., Ochoazarzosa A., Lópezmeza J., Bravo-patiño A., Baizabal-aguirre V., "Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis". *J. Infect.*, (2007), 54 : 399-409.
72. Tuchscher, L., Buzzola F., Alvarez L., Caccuri R., Lee J., Sordelli D., "Capsule negative *Staphylococcus aureus* induces chronic experimental mastitis in mice". *Infect. Immun.*, (2005), 73 : 7932-7937.

73. Rainard, P., Riollet C., "Innate immunity of the bovine mammary gland". *Vet. Res.*, (2006), 37 : 369- 400.
74. Boufaïda Asnoune, Z., Butel M.J, Ouzrout R., "Prévalence des principales bactéries responsables de mammites subcliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie", *revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, (2012), 65 (1-2) :5 -9.
75. Saidi, R., Khelef, D., Kaidi, R., "Subclinical mastitis in cattle in Algeria: Frequency of occurrence and bacteriological isolates". *Journal of the South African Veterinary Association*, 84(1), (2013), 1-5.
76. Benhamed, N., Kihal, M., "Biodiversity of molecular profile of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis cases in West Algeria. *African Journal of Bacteriology Research*, 5(4), (2013), 41-45.
77. Ait Kaki, A., Djebala, S., M. B., Moula, N., "Evaluation of the Prevalence of Subclinical Mastitis in Dairy Cattle in the Soummam Valley" (Bejaia, *Agricultura no. 3 - 4 (119-120)/2021 Agriculture - 79 - Algeria*). *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca: Veterinary Medicine*, 76(2), (2019), 143-148.
78. Shyaka, A., Kadja, M.C., Kaney, Kaboret, Y.; Badaalambedji, R., "Diagnostic des mammites cliniques et sub-cliniques en élevage bovin laitier intensif. Cas de la ferme de Wayembam (Sénégal)". *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales, E.I.S.M.V. de Dakar, RASPA V.8, n° 3-4*, (2010).
79. Poutrel, B., Bareille, S., Lequeux G., Leboeu, F., "Prevalence of Mastitis Pathogens in France: Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* and *Escherichia coli*", *Journal of Veterinary Science & Technology*, V.9, n°2, (2018).
80. Cucarella, C., M.A. Tormo, C. Ubeda, M.P. Trotonda, M. Monzón, C. Peris, B. Amorena, I. Lasa, J.R. Penadés., "Role of biofilm-associated protein *bap* in the

pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus*. *Infect. Immun.* (2004), 72:2177–2185.

81. Davies, D., "Understanding biofilm resistance to antibacterial agents". *Nat. Rev. Drug Discov.* (2003), 2:114–22

82. Otto, M., "Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity", *Annu. Rev. Med.* n°64, (2013), 175–188.

83. Melchior, M.B., J. Fink-Gremmels, W. Gaastra., "Extended antimicrobial susceptibility assay for *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis growing in biofilms". *Vet. Microbiol.* (2007), 125:141–149.

84. Vlamakis, H., Chai, Y., Beauregard, P., Losick, R., Kolter, R "Sticking together: building a biofilm the *Bacillus subtilis* way" *Nature Reviews Microbiology* 11.3 (2013): 157-168.

85. Alain, V., "Etude descriptive de l'identification des bactéries du lait dans un élevage à l'aide de la bactériologie, comptage cellulaire de tank (cct) et des comptages cellulaires individuels", (cci) thèse. *Doct.vet. Ecole Nationale vétérinaire d'Alfort, France*, (2011)

86. Badinand, F., "Utilisation des comptages cellulaires du lait dans la lutte contre les mammites bovines", *Rec. Méd. Vét.*, V.170, (2003), 153-168.

87. National Mastitis Council, "Microbiological Procedures for Use in the Diagnosis of Bovine Udder Infection and Détermination of Milk Quality". ,Verona, Wisconsin, (2004), NMC

88. Sol J., Sampimon O.C., Snoep J.J., Schukken Y.H., " Factors associated with bacteriological cure during lactation after therapy for subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*". *J. Dairy Sci.*, (1997), 80, 2803-2808.

89. Fetrow J., Stewart S., Eicher S., Farnsworth R., Bey R., "Mastitis an economic consideration, proceeding of the annual meeting of the National Mastitis Council", (2000), 3-47.
90. Dinsmore, R.P., "Biosecurity for mammary disease in dairy cattle", *vet clin, food Anim*, (2002), 18 : 115-131.
91. Zaatout, N., Ayachi, A., Kecha, M., "Epidemiological investigation of subclinical bovine mastitis in Algeria and molecular characterization of biofilmforming *Staphylococcus aureus*". *Tropical animal health and production*, 52(1), (2020), 283-292.
92. Biggs, A., Mastitis in cattle. 2.ed. Crowood Press (2009). p.14
93. Gay, E., Bord, S., Boichard, D., Barnouin, J., "Modalités de traitement des mammites cliniques en élevage bovin laitier en France". *Renc. Rech. Ruminants*, V°9. (2002).
94. Teuber, Michael. "Veterinary use and antibiotic resistance." *Current opinion in microbiology* 4.5 (2001): 493-499
95. Werckenthin, C., Cardoso, M., Martel, J. L., Schwarz, S., "Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus*, and canine *Staphylococcus intermedius*". *Veterinary Research*, 32(3-4), (2001), 341-362.
96. Lowy, F. D., "Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*", *J Clin Invest.*, V. 111, n°9, (2003), 1265-1273
97. Prescott, J.F., "Beta-lactam antibiotics: penam penicillins". In Antimicrobial therapy in veterinary medicine. 4th ed., Ames, Blackwell publishing, (2006), 121-137.
98. Fluit, AC, Visser, MR., Schmitz, FJ., "Molecular detection of antimicrobial resistance ", *Clin Microbiol Rev.*, V. 14, n°4, (2001), 836-871.

99. Chopra, Roberts, M., "Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance", *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, V. 65, n°2, (2001), 232-260.
100. Giguère, S., "Macrolides, azalides and ketolodes", In *Antimicrobial therapy III veterinary medicine*. 4th ed., Ames, Blackwell publishing, (2006), 191-205.
101. Keefe, G., "Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis". *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, (2012), 28:203-216
102. Benaist Angers, D., "Réalisation chambre régionale d'agriculture des pays de loir pour le GIE élevage-conception", Edition (décembre 2009).
103. Gilibert S., "les affections cutanées de la mamelle et du trayon chez la vache", thèse de doctorat, Université Claude-Bernard - LYON I (Médecine - Pharmacie), (2008).
104. Middleton, J.R., MA J., Rinehart, C.L., Taylor, V.N., Luby, C.D., Steevens, B.J., "Efficacy of different Lysigin formulations in the prevention of *Staphylococcus aureus* intramammary infection in dairy heifers ", *J. Dairy Res.*, V. 73, (2006), 10-19
105. Pellegrino, M., Giraud, J., Raspanti, C., Nagel, R., Odierno, L., Primo, V., Bogni, C., "Experimental trial in heifers vaccinated with *Staphylococcus aureus* avirulent mutant against bovine mastitis", *Vet. Microbiol.*, V. 127, (2008), 186-190.
106. Ulmer, J., Valley, U., Rappuoli, R., "Vaccine manufacturing: challenges and solutions", *Nat. Biotechnol.*, V. 24, (2006), 1377- 1383.
107. Han, H., Pak, S.N., Guidry, A., "Prevalence of capsular polysaccharide (CP) types of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitic milk and

protection of *S. aureus* infection in mice with CP vaccine". *J. Vet. Med. Sci.*, V. 62, (2000), 1331-1333.

108. Halasa, T., K. Huijps, O. Østerås, H. Hogeveen, "Economic effects of bovine mastitis and mastitis management ", A review. *Vet. Q.*, V. 29, (2007), 18–31.
109. Ruegg, P. L., "Investigation of mastitis problems on farms", *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, (2003), 19:47–73.
110. Peeler, E. J., M. J. Green, J. L. Fitzpatrick, L. E. Green, "Study of clinical mastitis in British dairy herds with bulk milk somatic cell counts less than 150,000 cells/ml". *Vet. Rec.*, (2002), 151:170–176
111. Van den Borne, B. H. P., G. van Schaik, T. J. G. M. Lam, M. Nielen, "Variation in herd level mastitis indicators between primiparous and multiparous in Dutch dairy herds". *Prev. Vet. Med.*, (2010), 96:49–55.
112. Schukken, Y. H., J. Hertl, D. Bar, G. J. Bennett, R. N. González, B. J. Rauch, C. Santisteban, H. F. Schulte, L. Tauer, Welcome, F. L., "Effects of repeated gram-positive and gram-negative clinical mastitis episodes on milk yield loss in Holstein dairy cows". *J. Dairy Sci.*, (2009), 92:3091– 3105
113. Barbano, D. M., Y. Ma, Santos, M. V., "Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life". *J. Dairy Sci.* 89(Suppl. 1):, (2006), E15–E19
114. Pérez-Cabal, M. A., G. De los Campos, A. I. Vazquez, D. Gianola, G. J. M. Rosa, K. A. Weigel, Alenda, R., "Genetic evaluation of susceptibility to clinical mastitis in Spanish Holstein cows" *J. Dairy Sci.*, (2009), 92:3472–3480
115. Cha, E., J. A. Hertl, Y. H. Schukken, L. W. Tauer, F. L. Welcome, Gröhn, Y. T., "The effect of repeated episodes of bacteriaspecific clinical mastitis on mortality and culling in Holstein dairy cows". *J. Dairy Sci.*, (2013), 96:4993– 5007.

116. Saini, V., J. T. McClure, D. Léger, S. Dufour, A. G. Sheldon, D. T. Scholl, Barkema, H. W., "Antimicrobial use on Canadian dairy farms". *J. Dairy Sci.*, (2012), 95:1209–1221
117. Hameed, K. G. A., Sender, G., Korwin-Kossakowska, A., "Public health hazard due to mastitis in dairy cows. *Animal Science Papers and Reports*", 25(2), (2007), 73-85
118. Carter, E.W., Kerr, D.E., "Optimization of DNA-based vaccination in cows using green fluorescent protein and protein A as a prelude to immunization against staphylococcal mastitis". *J. Dairy Sci.*, (2003), 4, 1177–1193.
119. Hebert, A., Sayasith, K., Senechal, S., Dubreuil, P., Lagace, J., 2000. "Demonstration of intracellular *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis alveolar cells and macrophages isolated from naturally infected cow milk". *FEMS Microbiol. Lett.*, (2000), 1, 57–62
120. Tamendjari, S., Bouzebda, F. Afri, Chaib, L., "Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw cow and goat milk produced in the Tiaret and Souk Ahras areas of Algeria". *Veterinary World*, V. 14, n° 7, (2021), p. 1929.
121. Oliver, S. P., Gonzalez, R. N., Hogan, J. S., Jayarao, B. M Owens, W. E., "Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality". National Mastitis Council, Verona, WI. (2004).
122. CLSI, "Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standards Institute", Wayne, PA, USA, (2007).
123. Leclercq, R., Cantón, R., Brown, D. F., Giske, C. G., Heisig, P., MacGowan, A. P Kahlmeter, G. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(2), (2013), 141-160.

124. Hocine, A., Bouzid, R., Talhi, H Khelef, D., "An epidemiological study of bovine mastitis and associated risk factors in and around El-tarf District, northeast Algeria". *Veterinarska stanica*, (2021), 52(5), 00.
125. Heleili, N., Ayachi, A., Melizi, M., Kassah, A. L., Mamache, B., "Prevalence of subclinical bovine mastitis and the in vitro sensitivity of bacterial isolates in Batna Governorate, East of Algeria". *J. Anim. Sci. Adv*, 2(6), (2012), 576-582.
126. Seegers. H, Fourichon. C, Beaudeau. F., "Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds". *Vet Res*, (2003), 34: 475-491
127. Belhadia M., Saadoud M., Yakhlef H. Bourbouze A., "La production laitière bovine en Algérie : Capacité de production et typologie des exploitations des plaines du Moyen Chlef". *Revue Nature et Technologie*, (2009), 01: 54-62.
128. Radostits, O.M, Gay, C.C, Hinchcliff, K.W., "Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats". 10.ed. Philadelphia: Saunders, (2007), p.673-762.
129. Abebe, R., Hatiya, H., Abera, M., Megersa, B., Asmare, K., "Bovine mastitis: Prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia". *BMC Vet. Res.*, (2016), 12: 270. 2401
130. Barkema, H. W., Schukken, Y. H., Zadoks, R. N., "The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis". *Journal of dairy science*, 89(6), (2006), 1877-1895.
131. M'sadak, R. Haj mbarek, L. Mighri, "étude analytique des comptages cellulaires somatiques du lait en élevage bovin hors sol dans la Tunisie littorale semi-aride", *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* (2017) 5 (2):112-119

132. Tongel, P., Brouček, J., "Influence of hygienic condition on prevalence of mastitis and lameness in dairy cows". Slovak Journal of Animal Science, 43(2), (2010), 95-99.
133. DeVries, T. J., Aarnoudse, M. G., Barkema, H. W., Leslie, K. E., Von Keyserlingk, M. A. G., "Associations of dairy cow behavior, barn hygiene, cow hygiene, and risk of elevated somatic cell count". Journal of dairy science, 95(10), (2012), 5730-5739.
134. Haj mbarek, Y. M'sadak, K. Kraiem, "Analyse descriptive des facteurs de risque des mammites chez des troupeaux bovins laitiers hors sol en milieu semi-aride (Tunisie) ", Rev. Mar. Sci. Agron. Vét. (2013,) 3:26-31
135. Safer, M., Saifudeen, R., Venkataramanan, Serma Saravana Pandian, A., "Relationship of risk factors with incidence of mastitis in cows". Journal of Entomology and Zoology Studies, (2018), 6(2): 2397-2402
136. Kocak, O. "Influence of mastitis on milk yields in Holstein Cows", Acta Vet Brno, 75, (2006), 507–513
137. Ndahetuye, J. B., Persson, Y., Nyman, A. K., Tukei, M., Ongol, M. P Bâge, R., "Aetiology and prevalence of subclinical mastitis in dairy herds in peri-urban areas of Kigali in Rwanda". Tropical Animal Health and Production, 51(7), (2019), 2037-2044
138. Belmamoun, A.R., "Étude microbiologique, épidémiologique et antibiorésistance du Staphylococcus aureus dans le lait de vache atteinte de mammite", thèse de doctorat, (2016).
139. Arslan, E., Celebi, A., Acik, L., Ucan, U. S., "Characterisation of coagulase positive Staphylococcus species isolated from bovine mastitis using protein and plasmid patterns". Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, (2009), 33(6): 493-500.

140. Chougule, M., Gandge, R., Bannalika, A., Majee, S., Pharande, R., "Characterization of Staphylococcus aureus associated with bovine mastitis". Indian Journal of Dairy Science, (2014), 67(6).
141. Benhamed, N., Moulay, M., Aggad, H., Henni, J. E., Kihal, M., "Prevalence of mastitis infection and identification of causing bacteria in cattle in the oran region West Algeria". Journal of animal and veterinary Advances, 10(22), (2011), 3002-3005
142. Akkou, M., Antri, K., Bachtarzi, M. A., Bes, M., Tristan, A., Dauwalder, O., Ramdani-Bouguessa, N., "Phenotypic and genotypic characterization of Staphylococcus aureus strains associated with bovine mastitis and nasal carriage of workers in contact to animals in Algeria". Pak. Vet. J, 36(2), (2016), 184-188.
143. Bakir, M., Sabrina, R., Toufik, M., "Antibacterial susceptibility profiles of sub-clinical mastitis pathogens isolated from cows in Batna and Setif Governorates (East of Algeria) ". Veterinary World, 4(12), (2011), 537-541
144. Khairullah, A. R., Ramandinianto, S. C., Effendi, M. H. A Review of Livestock-Associated "Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (LA-MRSA) on Bovine Mastitis". Sys Rev Pharm, (2020), 11 (7): 172, 1
145. Ben Said, Abbassi M.S., Bianchini V., Sghaier S., Cremonesi P., Romanò A., Gualdi V., Hassen A., Luini M., "Genetic characterization and antimicrobial -resistance of Staphylococcus aureus isolated from bovine milk in Tunisia", copyright, (2016).
146. Khemiri, M., Abbassi, M. S., Couto, N., Mansouri, R., Hammami, S., Pomba, C., "Genetic characterisation of Staphylococcus aureus isolated from milk and nasal samples of healthy cows in Tunisia": First report of ST97-t267-agrI-SCCmecV MRSA of bovine origin in Tunisia. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 14 (2018) : 161-165.
147. Klibi, A., Jouini, A., Boubaker El Andolsi, R., Kmiha, S., Ben Hamda, C., Ghedira, K., Maaroufi, A., "Epidemiology of β -lactamase-producing

staphylococci and gram negative bacteria as cause of clinical bovine mastitis in Tunisia". *BioMed Research International* 16 (2019) : 145-151.

148. Elhaig, M.M., Abdelfattah S., "Molecular and bacteriological investigation of subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* in domestic bovids from Ismailia, Egypt." *Tropical animal health and production* 47.2, (2015): 271-276.
149. Elsayed, M. S., Mai A. D., "Phenotypic and genotypic detection of virulence factors of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and subclinical mastitis in cattle and water buffaloes from different farms of Sadat City in Egypt." *Veterinary world* 8.9 (2015): 1051.
150. Dabele, D. T., Borena, B. M., Admasu, P., Gebremedhin, E. Z., Marami, L. M., "Prevalence and risk factors of mastitis and isolation, identification and antibiogram of staphylococcus species from mastitis positive zebu cows in toke kutaye, cheliya, and dendi districts, west shewa zone, Oromia, Ethiopia." *Infection and Drug Resistance* 14 (2021): 987.
151. Öncel, T., İça, T., Akan, M., "Beta lactamase production rate and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and subclinical mastitis cases in Turkey". *Rev. Med. Vet.*, 155(7), (2004): 385-388.
152. Botrel, M.-A., "Distribution and antimicrobial resistance of clinical and subclinical mastitis pathogens in dairy cows in Rhône-Alpes, France." *Foodborne pathogens and disease* 7.5 (2010): 479-487.
153. Jamali, H., Radmehr, B., Ismail, S., "Short communication: prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine clinical mastitis". *Journal of dairy science*, 97(4), (2014): 2226-2230
154. Saidi, R., Mimoune, N., Baazizi, R., Benaissa, M. H., Khelef, D Kaidi, R., "Antibiotic susceptibility of Staphylococci isolated from bovine mastitis in Algeria". *Journal of advanced veterinary and animal research*, 6(2), (2019), 231

155. Molineri, A. I., Camussone, C., Zbrun, M. V., Archilla, G. S., Cristiani, M., Neder, V., Signorini, M., "Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis: Systematic review and meta-analysis". *Preventive Veterinary Medicine*, (2021), 188: 105261

PREVALENCE AND ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLATED FROM COW MASTITIS IN ALGERIA

Nabila BOUKHALFA¹), Mohamed DOUIFI²)*, Ali BERBER²), Ahcène HAKEM^{3,4})

¹Biology Department, Faculty of Natural and Life Sciences, University of Khemis Miliana, Theniet El Had Road, 44225, Khemis Miliana, Algeria

²University of Blida 1, Institute of Veterinary Sciences, Street Soumaa, BP270, 09000, Blida, Algeria

³Laboratory of Exploration and Valuation of Steppe Ecosystems, University of Djelfa, Djelfa, Algeria

⁴Center of Research in Agropastoralism, Djelfa, Algeria

*Corresponding author: douifi.mohamed@univ-blida.dz

Abstract. Mastitis is defined as inflammation of the mammary gland and is characterized by local and systemic symptoms that occasionally cause a general infection. This illness has a heavy impact on cows' wellbeing and milk quality. The aims of this work were to evaluate the prevalence of clinical and subclinical mastitis, identify the related risk factors, determine the role of *Staphylococcus aureus* in udder infection and its susceptibility to different antibiotic drugs. A total of 224 dairy cows from 28 farms were tested by the California mastitis test (CMT) for sub-clinical mastitis and by clinical examination for clinical mastitis. Positive samples were subjected to laboratory analysis. The results demonstrate a prevalence of 3.57% and 47.32% for mastitis and subclinical mastitis respectively. Parity, udder and leg hygiene, and stage of lactation have a significant relationship with subclinical mastitis. *Staphylococcus aureus* has been isolated from 12.5% of clinical mastitis and 24.52% of subclinical mastitis. Antibiotic susceptibility testing reveals a high resistance to penicillin G (66.6%). Tetracyclin (29.62%), Erythromycin (18.51%), Trimethoprim + sulfamethoxazole (14.81%), enrofloxacin (11.11%), oxacillin (7.4%) and amoxicillin/clavulanate (3.7%). This result highlights the need to improve mastitis control measures among dairy cow farmers and the necessity to support responsible use of antibiotics in Algeria dairy farming.

Keywords: cows, mastitis, prevalence, *Staphylococcus aureus*, antibiotic, resistance.

INTRODUCTION

Mastitis is defined as an inflammation of the udder tissues and can be classified as clinical or subclinical. Clinical forms are characterized by visible symptoms like mammal engorgement, hotness, and the presence of clots and/or discolouration of the milk. Subclinical mastitis does not give visible signs. It is only identified by somatic cell count (SCC), augmented to more than 200,000 cells/ml and by laboratory analysis. In dairy farms, subclinical mastitis is 15 to 40 times more frequent than clinical cases (Seegers et al, 2003; Abdulla et al, 2011; Cobirka et al, 2020).

Cow mastitis is caused by more than 140 agents (Abebe, 2016; Topuzoğlu et al, 2015). Epidemiologically, these microorganisms are classified as contagious and environmental. The contagious pathogens disseminate from animal to animal using the mammal gland as a reservoir. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) is placed among the contagious bacteria and constitutes the most important microorganism causing dairy

cow mastitis, responsible for about one-third of cases of clinical and subclinical mastitis (Topuzoğlu et al, 2015; Bouari et al, 2016; Li et al, 2017). They are particularly difficult to eradicate from the infected herds because of their virulence, resistance in the farm environment, colonisation of mammal skin and mucosal epithelia, and low response to the current antibiotic treatments (Rainard et al, 2018).

The reason for the therapy failure related to *S. Aureus* mastitis is due to the ability of certain strains to resist beta-lactam antibiotics either by the synthesis of beta-lactamases or by the exhibition of penicillin-binding protein 2a (PBP 2a), which is not inhibited by beta-lactam antibiotics. And, the developments in chronic cases of abscess enclosed in a thick fibrous membrane that prevents antibiotic penetration (Shamoon, 2006; Barkema et al, 2006; Spînu et al, 2008).

For effective control of *S. aureus* mastitis in dairy cows, proper milking routine, disinfecting teats after-milking, biosecurity measures, early detection of infected animals and culling those with chronic mastitis are the essential aspects (Zadoks et al, 2002; Barkema, 2006)

This study was designed to determine the prevalence of clinical and subclinical mastitis in dairy cows farms, the related risk factors, the part of *S. aureus* in udder infection and its susceptibility to different antibiotic drugs.

MATERIAL AND METHODS

Study region

The study was conducted in two provinces, Medea and Blida, located in central Algeria. This region has a Mediterranean climate with a dry, hot summer and cold winter. The temperatures range from 30 to 40 C in summer and from 2 to 10°C in winter. The rainfall is moderate, varying between 400 and 600 mm per year.

Sampling technique

In the period between November 2018 and September 2019, 28 dairy cow farms were visited in the two provinces to collect data and milk samples. The visited farms were chosen by convenience. Only farms owned by breeders who agreed to participate in the survey are included.

Data collection procedure

A questionnaire was used to interview each of the participating farmers. The purpose of this interview was to collect information about risk factors, such as the hygienic state of the drainage system (dirty, clean), udder and leg hygiene, the use of towels to dry the teats before milking (yes, no), washing hands before milking (yes, no), udder washing, udder drying after washing, previous mastitis history, management type, herd size, use of bedding material, milking cows with mastitis last. And, for each cow: breed, age, parity, stage of lactation, lactation numbers and milk yield.

Milk Sampling and Analyses:

The cows were first screened for clinical mastitis by questioning the farmer and by visual inspection/palpation of the udder. The cows with clinical mastitis were subjected to milk samples. Those who presented no sign of mastitis and apparently normal milk were eligible for CMT test. Quarters responded positively to CMT test were sampled aseptically for bacteriological culture. The samples were put in a cool box with ice packs, then transported to a central veterinary laboratory before being

deep frozen at -20 °C. Frozen samples were brought to ambient temperature (22-25°C) and then homogenised with a Vortex mixer. Bacteriological culture was performed in accordance with National Mastitis Council guidelines. About 0.01 mL of milk was cultured on 5% sheep blood agar medium and aerobically incubated at 37 °C. Plates were screened after 24 hours, and colonies were identified based on their morphology, Gram stain and haemolysis characteristics. The Gram-positive cocci were examined for coagulase production and catalase to confirm their identity as *S. aureus*. The sample was perceived as positive for *S. aureus* when at least one colony was known as *S. aureus* (Oliver et al, 2004).

Antimicrobial susceptibility

Antimicrobial susceptibility was conducted using the disk-diffusion agar method, according to recommendations of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2007). The antibiotics tested were 1a Penicillin G (PG-10 UI), amoxicillin + clavulanic acid (AMC- 20/10 µg), Oxacillin (OX- 1 µg), 1a Cefoxitin (Fox-30 µg), Erythromycin (E-15 µg), 1a Neomycin (N- 30 µg), 1a Gentamicin (Gm-10 µg), Enrofloxacin (ENR-5 µg), 1e Trimethoprim + sulfamethoxazole (SXT- 1,25 / 23,75 µg), Tetracyclin (Te -30 µg), Vancomycin (VA-30 µg), Bacitracin (Ba-130 µg), Clindamycin (Cm-2 µg) (CLSI 2007). After 24 h of incubation at 37°C, the results were interpreted according to the veterinary recommendations of the Antibiogram Committee of the French Society of Microbiology (AC-FSM VET, 2018). And, the isolates were classified as susceptible (S), intermediate (I) or resistant (R). The discs used come from the Biomerieux laboratory (France). Reference strain *S. Aureus* (ATCC 29213) was used for quality control.

Statistical analysis

All obtained data (questionnaire, CMT and bacteriological culture) were saved in Microsoft Excel® 2010 spreadsheets. The data was then transferred to SPSS windows version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) for statistical examination. The prevalence of clinical and subclinical mastitis and the prevalence of *S. aureus* isolated from subclinical and clinical mastitis were calculated using descriptive statistics. The relationship between the various parameters and outcomes of CMT and laboratory analysis is performed with Chi square (χ^2). Multivariable logistic regression was realized to measure the association between the most predictive risk factors and subclinical mastitis.

RESULTS AND DISCUSSION

Prevalence of mastitis

The 28 visited farms contained 224 dairy cows. According to clinic diagnosis and CMT findings, the total mastitis prevalence (clinical and subclinical) in cows in the study area was evaluated at 50.89 %. Clinical and subclinical mastitis have a farm prevalence of 14.28% and 82.14%, respectively, and an individual prevalence of 3.57 % and 47.32%. At the quarter level, the prevalence of clinical and subclinical mastitis is evaluated to be 1.92% and 34.27%, respectively (Table 1). Subclinical mastitis is more common at herds, individuals, and quarters levels than clinical mastitis.

Table 1

Occurrence of clinical and subclinical mastitis at farm, cow and quarter level

Level	Sample Size	Mastitis type		
		Overall mastitis	Clinical mastitis	Subclinical mastitis
Herd level	28	(24/28) 85.71 %	(4/28) 14.28 %	(23/28) 82.14 %
Individual level	224	(114/224) 50.89 %	(8/224) 3.57 %	(106/224) 47.32 %
Quarter level	881/896	(445/881) 36.2 %	(17/881) 1.92 %	(302/881) 34.27 %

Mastitis risk factors

On the whole, the back quarters were much more touched than the front quarters. The proportion of positive CMT results in the right back quarters was significantly ($p < 0.001$) greater than in the left or right front quarters, but there was no significant variation between the left and right back quarters ($p > 0.05$) (Table2).

Table 2

Result of CMT according to udder quarter position

Quarter	Tested Number	Positive number	Prevalence (%)	X ²	P
Right hind	220	105	47.72	ref	
Left hind	218	98	44.95	2.5	0.101
Right fore	222	60	27.02	59.2	<0.001
Left fore	221	56	25.33	66.5	<0.001

Several risk factors associated with the occurrence of mastitis were examined in the univariable logistic regression analysis. Among these factors, udder and leg hygiene, lactation numbers, and milk yield were found to be significantly ($p < 0.05$) linked with the existence of CM. Udder and leg hygiene, age, parity, lactation stage, and milk yield were found to be significantly ($p < 0.05$) correlated with the presence of SCM.

For multivariable logistic regression analysis, only independent variables are included, namely herd size, management type, breed, milking mastitis cows last, use of bedding material, parity, udder and leg hygiene, and stage of lactation. The results revealed that, with the exclusion of management type, breed and herd size ($p > 0.05$), all the factors retained had a significant role in subclinical mastitis ($p < 0.05$).

Prevalence of mastitis infected by *S. aureus*

S. aureus was isolated from 23.68% (27/114) of cows affected by mastitis. Isolation from clinically and subclinically mastitis was 12.5% and 24.52%, respectively. At farm level, *S. aureus* was detected in 59.25% of farms affected with mastitis, 25% of farms affected by clinical mastitis and 65.21 of farms affected by sub clinical mastitis (Table 3).

Table 3

Isolation rate of *S. aureus* from clinical and subclinical mastitis at farm and individual level

	Farm level	Individual level
Clinical mastitis	(1/4) 25%	(1/8) 12.5%
Subclinical mastitis	(15/23) 65.21%	(26/106) 24.52%
Over all	(16/27) 59.25%	(27/114) 23.68%

Antimicrobial susceptibility of *S. aureus*

The antimicrobial susceptibility testing revealed a greatest in vitro resistance to penicillin G (66.6%). 22% of the *S. aureus* isolated were nonsusceptible to all tested antibiotics, whereas 78% were resistant to at least one antibiotic. 14.81% of the isolates were also resistant to Trimethoprim + sulfamethoxazole, Tetracyclin (29.62.2%), Erythromycin (18.51%), enrofloxacin (11.11%) and oxacillin (7.4.%). Only 3.7% of the isolates were resistant to amoxicillin/clavulanate. No resistance has been observed to clindamycin, neomycin, gentamicin and vancomycin.

The total cow-level mastitis prevalence was 50.89%, 3.57% for clinical mastitis and 47.32% for sub-clinical mastitis. The prevalence of clinical mastitis founded in our study is much lower than the prevalence founded by Hocine et al (2021) in the eastern country (9.8%). Whereas the prevalence of subclinical mastitis is higher than the previous study (25-40%) (Heleili et al, 2012, Saidi et al, 2013, Zaatout et al, 2020 ,Ait Kaki et al, 2019, hocine et al, 2021).

According to Seegers et al. (2003), the sub-clinical form is 15 to 40 times more prevalent than the clinical form. The affected animals constitute a veritable source of pathogens for the others animals. The predominance of subclinical mastitis in farms is often due to farmers' lack of attention to this type of mastitis, as the affected animals exhibits no specific symptoms and products manifestly normal milk.

The fact that all of the producers failed to execute a periodic mastitis control program, like CMT or other screening test, resulted in a high frequency of sub-clinical mastitis. This may explain the low level of awareness about the unseen losses caused by subclinical mastitis.

The finding of a higher prevalence of subclinical mastitis in the hindquarters is consistent with previous studies (Barkema et al, 2006; hocine et al, 2021), the decline position and higher milk yield production of the hind quarters in comparison to fore ones, making them more exposed to infection and hurts conducted to mastitis (Kocak et al, 2006). The increased risk of the SCM linked to multiparity in this survey could be associated with a cumulative number of exposures to bacteria of multiparous females through milking (Ndahetuye et al, 2019). Furthermore, lack of bedding material represents another risk for subclinical mastitis. It seemed that good and sufficient bedding material constitutes a sort of barrier between the environment pathogens and the udder. This result is reported by Radostitis et al. (2007) and confirmed by Abebe et al. (2016). Udder and leg hygiene was another risk factor noted in our study, is linked directly with a hygiene statue of the farm and reflects the awareness level of the farmer about the application of the prevention measures relative to mastitis control. Similar results are reported by other studies (Tonge et al, 2010; DeVries et al, 2012; Safeer et al, 2018)

In the current study, the prevalence of infection by *S. aureus* is higher in both clinical (12.5%) and subclinical mastitis (24.52%), this can be justified by the ability of *S. aureus* to survive in the adder and causes a chronic and lent infection that persist during the dry period, difficult to treat and eradicate from the herd. Similar, previous research carried out in Algeria reported that *S. aureus* was the most prevalent pathogen causing mastitis, the isolation rates varying from 30 % to 74 % for clinical mastitis (benhamed et al, 2011; akkou et al, 2016; Benhamed et al, 2013) and from 4.5 % to 41 % for subclinical mastitis (Bakir et al, 2011; Benhamed et al, 2013; Saidi et al, 2013;

Zaatout et al, 2020). In many parts of the World, *S. aureus* is the principal pathogenic agent among a different type of bacteria, causing up to 40% of mastitis cases in dairy cows (Khairullah et al, 2020).

S. aureus showed a resistance to penicillin, Trimethoprim + sulfamethoxazole, Tetracyclin, Erythromycin and enrofloxacin, oxacillin and amoxicillin/clavulanate, with variable degree. The prolonged use of these antibiotic by veterinaries to treat different sort of infection raise the resistance among bacteria. However, the absence of resistance of the other tested antibiotics (Clindamycin, neomycin, Gentamicin, and Vancomycin) was not as expected given that these antibiotics have been used in our country for many years both in veterinary and public health fields. In line with this result, other studies in our countries showed that *S. aureus* are revealed a high level of resistance to penicillin (80-100%). The other antibiotics chows a resistance rate between 10 and 40% (Tetracyclin, erythromycin, clindamycin, vancomycin, enrofloxacin, cefoxitin and the combination amoxicillin + clavulanate) (Akkou et al, 2016; Saadi et al, 2019).

In the World, regarding a review research conducted by Molineri et al. (2021) about antimicrobial resistance of *S. aureus* isolated from bovine mastitis, The highest overall resistance prevalence of *S. aureus* was against penicillin (45%), followed by clindamycin 14%, erythromycin 8%, and gentamycin (7%). Ceftiofur and cephalotin revealed the lowest antimicrobial resistance (AMR) prevalence. The antimicrobials present a higher growth in their AMR incidence were clindamycin, gentamycin, and oxacillin. The continents that demonstrate a higher AMR were Africa, Asia and Latin America (Molineri et al, 2021).

CONCLUSIONS

The current study has revealed that mastitis, especially sub-clinical type, is a dominant disease in the dairy farms of Algerian milk sector. Deficiency of application of routine mastitis control measures associated with the dominance of risk factors are the principal reasons behind. *S. aureus* is a leading pathogen causing mastitis; it's responsible of about a quarter of mastitis cows and isolated from 60 % of herds affected by mastitis. The results of *S. aureus* susceptibility to antimicrobial drugs show a high level of resistance to penicillin. Therefore, the present study emphasises the necessity of implementation of sufficient mastitis prevention strategy with particular emphasis on sub-clinical and contagious mastitis. Besides, the administration of antibiotic particularly penicillin and related drugs should be carefully considered for mastitis control.

Conflict of interest: The authors have no competing of interest to declare.

Acknowledgements: We would like to thank the head of central veterinary laboratory (INMV, Algiers) and the private veterinaries in the study area.

REFERENCES

1. Abebe, R., Hatiya, H., Abera, M., Megersa, B. and Asmare, K. (2016). Bovine mastitis: Prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. BMC Vet. Res., 12: 270. 2401. [https:// doi 10.1186/s12917-016-0905-3](https://doi.org/10.1186/s12917-016-0905-3)
2. Ait Kaki, A., Djebala, S., Muhammad Bilal and Moula, N. (2019). Evaluation of the Prevalence of Subclinical Mastitis in Dairy Cattle in the Soummam Valley (Bejaia,

Algeria). Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca: Veterinary Medicine, 76(2), 143-148. <https://doi:10.15835/buasvmcn-vm:2019.0006>

3. Akkou, M., Antri, K., Bachtarzi, M. A., Bes, M., Tristan, A., Dauwalder, O and Ramdani-Bougoussa, N. (2016). Phenotypic and genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with bovine mastitis and nasal carriage of workers in contact to animals in Algeria. Pak. Vet. J, 36(2), 184-188.

4. Bakir, M., Sabrina, R and Toufik, M. (2011). Antibacterial susceptibility profiles of sub-clinical mastitis pathogens isolated from cows in Batna and Setif Governorates (East of Algeria). Veterinary World, 4(12), 537-541. <https://doi: 10.5455/vetworld.2011.537-541>

5. Barkema, H. W., Schukken, Y. H and Zadoks, R. N. (2006). Invited review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. Journal of dairy science, 89(6), 1877-1895. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72256-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72256-1)

6. Benhamed, N and Kihal, M. (2013). Biodiversity of molecular profile of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis cases in West Algeria. African Journal of Bacteriology Research, 5(4), 41-45. <https://doi.org/10.5897/JBR2012.0079>

7. Benhamed, N., Moulay, M., Aggad, H., Henni, J. E and Kihal, M. (2011). Prevalence of mastitis infection and identification of causing bacteria in cattle in the oran region West Algeria. Journal of animal and veterinary Advances, 10(22), 3002-3005. <https://doi: 10.3923/javaa.2011.3002.3005>

8. Bouari, C., Nadăș, G. C., Chirilă, F., Răpunțean, S., Cătoi, C., Tăbăran, F. A and Fiț, N. I. (2016). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Profiles of Pathogen Isolated from Bovine Mastitis Milk in Transylvania, Romania. Bulletin UASVM Veterinary Medicine, 73, 2. <https://doi:10.15835/buasvmcn-vm: 12199>

9. CLSI, (2007). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.

10. Cobirka, M., Tancin, V., & Slama, P. (2020). Epidemiology and Classification of Mastitis. Animals, 10(12), 2212. <https://doi.org/10.3390/ani10122212>

11. DeVries, T. J., Aarnoudse, M. G., Barkema, H. W., Leslie, K. E and Von Keyserlingk, M. A. G. (2012). Associations of dairy cow behavior, barn hygiene, cow hygiene, and risk of elevated somatic cell count. Journal of dairy science, 95(10), 5730-5739. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5375>

12. Heleili, N., Ayachi, A., Melizi, M., Kassah, A. L and Mamache, B. (2012). Prevalence of subclinical bovine mastitis and the in vitro sensitivity of bacterial isolates in Batna Governorate, East of Algeria. J. Anim. Sci. Adv, 2(6), 576-582.

13. Hocine, A., Bouzid, R., Talhi, H and Khelef, D. (2021). An epidemiological study of bovine mastitis and associated risk factors in and around El-tarf District, northeast Algeria. Veterinarska stanica, 52(5), 00. <https://doi.org/10.46419/vs.52.5.5>

14. Khairullah, A. R., Ramandinianto, S. C and Effendi, M. H. (2020). A Review of Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) on Bovine Mastitis. Sys Rev Pharm, 11 (7): 172, 183. <https://doi: 10.31838/srp.2020.7.28>

15. Kocak O. Influence of mastitis on milk yields in Holstein Cows (2006). Acta Vet Brno, 75, 507–513. <https://doi.org/10.2754/avb200675040507>

16. Li, T., Lu, H., Wang, X., Gao, Q., Dai, Y., Shang, J. and Li, M. (2017) Molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis between 2014 and 2015. Front Cell Infect Microbiol, 7: 127. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00127>

17. Molineri, A. I., Camussone, C., Zbrun, M. V., Archilla, G. S., Cristiani, M., Neder, V., and Signorini, M. (2021). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis: Systematic review and meta-analysis. Preventive Veterinary Medicine, 188: 105261. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105261>

18. Ndahetuye, J. B., Persson, Y., Nyman, A. K., Tukey, M., Ongol, M. P and Båge, R. (2019). Aetiology and prevalence of subclinical mastitis in dairy herds in peri-urban areas of Kigali in Rwanda. *Tropical Animal Health and Production*, 51(7), 2037-2044. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01905-2>
19. Oliver, S. P., Gonzalez, R. N., Hogan, J. S., Jayarao, B. M and Owens, W. E. (2004). Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. National Mastitis Council, Verona, WI.
20. Radostits, O.M, Gay, C.C, Hinchcliff, K.W. (2007). *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*. 10.ed. Philadelphia: Saunders., p.673-762.
21. Rainard, P., Foucras, G., Fitzgerald, J. R., Watts, J. L., Koop, G and Middleton, J. R. (2018). Knowledge gaps and research priorities in *Staphylococcus aureus* mastitis control. *Transboundary and emerging diseases*, 65, 149-165. <https://doi.org/10.1111/tbed.12698>
22. Safer M Saifudeen, R Venkataramanan and A Serma Saravana Pandian. (2018). Relationship of risk factors with incidence of mastitis in cows. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(2): 2397-2402
23. Saidi, R., Khelef, D and Kaidi, R. (2013). Subclinical mastitis in cattle in Algeria: Frequency of occurrence and bacteriological isolates. *Journal of the South African Veterinary Association*, 84(1), 1-5. <https://doi.org/10.4102/jsava.v84i1.929>
24. Saidi, R., Mimoune, N., Baazizi, R., Benaissa, M. H., Khelef, D and Kaidi, R. (2019). Antibiotic susceptibility of *Staphylococci* isolated from bovine mastitis in Algeria. *Journal of advanced veterinary and animal research*, 6(2), 231. <https://doi: 10.5455/javar.2019.f337>
25. Seegers. H, Fourichon. C, Beaudeau. F (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res*, 34: 475-491. <https://doi: 10.1051/vetres:2003027>
26. Spînu, M., Şandru, C. D., Brudaşcă, G. F., Karolyi, S., Niculae, M., & Popescu, R. (2008). Systemic immune protective capacity in relation to the bacterial load of the udder in bovine mastitis. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, 65(2), 332-338. : <http://dx.doi.org/10.15835/buasvmcn-vm:65:2:1707>
27. Tongel, P., Brouček, J. (2010). Influence of hygienic condition on prevalence of mastitis and lameness in dairy cows. *Slovak Journal of Animal Science*, 43(2), 95-99.
28. Topuzoğlu, B., Baştan, A. and Salar, S. (2015). The effect of long term antibiotic treatment on bacteriological cure and somatic cell count at subclinical mastitis due to *Staphylococcus aureus* in lactating dairy cows. *Vet. J Ankara Univ*, 62, 289-294. https://doi.org/10.1501/Vetfak_0000002694
29. Zaatout, N., Ayachi, A., & Kecha, M. (2020). Epidemiological investigation of subclinical bovine mastitis in Algeria and molecular characterization of biofilm-forming *Staphylococcus aureus*. *Tropical animal health and production*, 52(1), 283-292.
30. Zadoks, R. N., Allore, H. G., Hagenaars, T. J., Barkema, H. W., & Schukken, Y. H. (2002). A mathematical model of *Staphylococcus aureus* control in dairy herds. *Epidemiol. Infect*, 129(2), 397-416. <https://doi.org/10.1017/S0950268802007483>