

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1

Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Populations et des Organismes



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction

Thème

**Contribution à l'étude des mammites subcliniques dues à
Staphylococcus Aureus chez la vache (prévalence et profil de résistance)**

Présenté par : M^r ADDOU MOHAMED LAMINE

M^r HAMIDI BOUDJELTHIA YASSINE

Devant le Jury :

Mr. KHELAF D.	Professeur	ENSV	Président
Mme. MEBKHOUT F.	MCB	U. Blida 1	Examinatrice
Mme. GHALLACHE L.	DVM MAG	U. Batna 1	Promotrice
Mr. KAIDI R.	Professeur	U. Blida 1	Co-promoteur

Sommaire

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Chapitre I : Étude bibliographique.

Partie I : Mammites bovines.

1. Définition des mammites.....	2
2. L'impact des mammites.....	2
2.1. Pour le producteur.....	2
2.2. Pour le transformateur.....	2
2.3. Pour le consommateur.....	2
3. Types de mammites.....	3
4. Principaux agents responsable des mammites bovines.....	4
4.1. Aspects Etiopathogénique.....	4
4.2. Bactéries contagieuses et environnementale.....	5
5. Épidémiologie.....	6
5.1. Paramètre indicateurs.....	6
5.1.1. La prévalence.....	6
5.1.2. L'incidence.....	6
5.1.3. La persistance.....	6
5.2. Facteurs de variation.....	7
5.2.1. Facteurs favorisant les mammites.....	7
5.2.2. Facteurs liée à l'animal.....	7
A. Numéro de lactation.....	7
B. Stade de lactation	7
C. Niveau de la production laitière.....	7
D. Utérus-Glandes mammaires.....	7
E. Rumen-Glandes mammaires.....	8
5.2.3. Facteurs liées à l'élevage.....	8
A. Habitat.....	8
B. Litière.....	8

C. Stabulation.....	8
D. La traite.....	8
5.2.4. Facteurs nutritionnel.....	9
A. Le climat.....	9
B. Le stress.....	10
C. Le besoin de veau.....	10
6. diagnostic de mammite.....	10
6.1. Diagnostic clinique.....	10
6.1.1. Examen visuelle de la mamelle.....	11
6.1.2. Palpation de la mamelle.....	11
6.1.3. Examen macroscopique des sécrétions mammaires.....	11
6.2. Le dénombrement des cellules du lait.....	11
6.2.1. Méthodes indirectes.....	11
A. Le Californian Mastitis (CMT).....	11
B. Test de catalase.....	13
6.2.2. Méthodes directes.....	13
A. Le comptage direct au microscope.....	13
B. Le comptage par le Coulter-Counter.....	13
C. Le système Fassomatic.....	13
D. Le diagnostic bactériologique.....	14
a. Acheminement et conservation des résultats.....	14
b. Interprétation des résultats.....	14
E. Diagnostic par mesure de la conductivité électrique.....	16
F. Diagnostic biochimique.....	16
7. Traitements des mammites.....	17
7.1. Traitements pendant la lactation.....	17
7.1.1. Le choix des animaux à traiter.....	18
7.1.2. Le choix des infections à traiter.....	18
7.2. Traitement au tarissement.....	19
7.2.1. Le protocole de traitement antibiotique au tarissement et autres traitements.....	19
A. Traitement uniforme.....	19
B. Traitement différencié.....	19
7.3. Les antibiotiques.....	20
7.4. Traitement par voie génitale.....	20
7.5. Autres traitements.....	20
7.5.1. La fluidothérapie.....	20

7.5.2. Les anti-inflammatoire.....	21
7.6. Réforme des vaches mammitesuses.....	21
8. Prophylaxie.....	21
8.1. Prophylaxie médico-sanitaire.....	21
8.1.1. La vaccination.....	21
8.1.2. Le traitement au tarissement.....	21
8.2. Mesure générale préventive.....	22
Partie II : <i>Staphylococcus aureus</i>	
1. Historique.....	22
2. Taxonomie.....	22
3. Habitat.....	23
4. Caractères généraux.....	23
1.1. Les caractères bactériologiques.....	23
1.2. Les caractères génomiques.....	24
5. Facteurs de virulence.....	24
6. Infection intra mammaire des bovins par <i>Staphylococcus aureus</i>	24
6.1. L'impact des mammites au <i>Staphylococcus aureus</i>	24
6.2. Pathogénie des mammites au <i>Staphylococcus aureus</i>	25
6.3. Adhésion de <i>staphylococcus aureus</i> aux cellules hôtes.....	25
6.4. Échappement aux défenses de l'hôte.....	25
6.5. Invasion du tissu mammaires.....	25
7. Toxi-infections de <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Partie III : l'antibiorésistance	
1. Antibiotique.....	26
2. Antibiothérapie à usage vétérinaire.....	26
3. Antibiorésistance.....	27
4. Origine de l'antibiorésistance.....	27
4.1. La Résistance naturelle.....	27
4.2. La résistance acquise.....	27
5. Mécanismes de l'antibiorésistance.....	28
6. Antibiorésistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	29
Chapitre II : Étude Expérimental	
Partie I : Matériels et méthodes	
1. Objectif de l'étude.....	30
2. Durée et lieu de l'étude.....	30
3. Présentation de la de la zone d'étude.....	30

4. Matériels utilisés.....	31
4.1. Matériels biologiques.....	31
4.2. Matériels non biologiques.....	31
5. Méthode utilisé.....	32
5.1. Test de CMT.....	32
6. Méthodes des prélèvements de lait de vaches.....	33
6.1. Nettoyage de la mamelle.....	33
6.2. Essuyage des trayons.....	33
6.3. L'élimination des premiers jets et prélèvement du lait.....	33
6.4. Conservation de tube et transport.....	34
7. Analyses microbiologique.....	34
7.1. Préparation des milieux de cultures.....	34
7.2. L'enrichissement.....	34
7.3. L'isolement.....	34
7.4. Purification.....	34
7.5. Identification des germes.....	35
7.6. Préparation du frottis.....	35
7.7. Coloration de Gram +/-.....	35
8. Tests d'identification biochimique.....	35
8.1. Test de manitol.....	35
8.2. Test de catalase.....	35
8.3. Test de coagulase.....	35
8.4. Test de désoxyribonucléase.....	35
8.5. Le kit PASTOREX™ STAPH-PLUS de BIORAD.....	36
8.6. La galerie API Staph.....	36
8.7. Test d'antibiogramme des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	37
8.8. Analyse statistique.....	38

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Résultats.....	39
1.1. Résultats de Test CMT.....	39
1.2. Résultats bactériologiques.....	40
1.3. Résultats d'isolements.....	40
1.4. Résultats d'identification par coloration de Gram +/-.....	40
1.5. Résultats d'identification biochimique.....	41
1.5.1. Résultats de test coagulase.....	41
1.5.2. Résultats la galerie API staph.....	42

1.5.3. Résultats d'antibiogramme.....	44
2. Discussion.....	45
2.1. Prévalence de mammites subcliniques.....	45
2.2. Analyses bactériologiques.....	46
2.3. Prévalence des staphylocoques.....	46
2.4. Coagulase.....	47
2.5. <i>Staphylococcus Aureus</i>	47
2.6. L'antibiorésistance.....	48
Partie III : Conclusion et perspectives.....	51
Références bibliographiques	
Annexes	

Remerciements

Avant tout, nos remerciements infinis sont adressés à “ Dieu le Tout Puissant ”, pour nous avoir donnés la volonté, la santé et la patience afin de réaliser et achever ce travail.

On tient à remercier tout particulièrement notre promotrice de thèse **Docteur GHALLACHE Loubna**, d’avoir dirigé méticuleusement ce travail, de nous avoir fait confiance, encouragé et conseillé tout en nous laissant une grande liberté. Trouvez dans ce travail tout notre respect et l’expression de notre profonde gratitude.

Au **Professeur KAIDI Rachid**, notre Co-promoteur de thèse. Nous sommes touchés de l’honneur que vous nous faites en acceptant de codiriger ce travail. A travers cette thèse, recevez toute notre reconnaissance et notre profonde gratitude pour votre enseignement riche en informations lors de nos stages.

Nous adressons nos plus chaleureux remerciements à notre **Docteur ADDOU Abdellatif**, pour l’intérêt qu’il a porté à notre travail, pour ses remarques avisées, pour son aide précieux et pour tout le temps qu’il nous a consacré.
Nous adressons nos sincères remerciements, a **KHELAF Djamel** professeur à l’école national supérieur vétérinaire d’Alger pour avoir accepté de présider le jury.

Nous tenons également nos vifs remerciements à **MEBKHOUT Faiza**, maitre de conférences B à l’université Saad Dahleb Blida 1 pour l’honneur qu’elle nous a fait en acceptant d’examiner ce mémoire.

Un merci très spécial à **LOUZRI Asma** notre chère amie pour ses conseils, ses remarques et ses encouragements.

A la fin nous exprimons nos remerciements à toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères que j'ai connues, qui restent dans mon cœur pour mes parents qui ont été mon repère, mon point de départ et ma locomotive durant toute ma vie je n'arriverais jamais leur exprimer mon amour sincère.

*Mon cher père **ABDELLATIF** mon idole et ma source de joie grâce à toi j'ai appris le sens de la responsabilité et de la confiance en soi je voudrais te remercier pour ton amour, ta compréhension, ton soutien et ton encouragement qui sont la lumière de tout mon parcours.*

Que Dieu te garde en bonne santé. Je te souhaite une longue et heureuse vie.

*À ma mère **SALIMA** la plus douce, aimable. Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance.*

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, te préserver et t'accorder en bonne santé.

Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir. Que Dieu tout puissant vous préservez et vous accordez en meilleure santé.

*À mes chères sœurs **SOUMIA** et **ZINEB** et mon petits frère **HOUSSEM** leur présence, soutien et leur amour. Je vous souhaite une vie d'amour, de bonheur et de joie.*

*À mon ami **YASSINE** mon binôme je te remercie pour tes encouragements et ta compréhension, ta patience.*

*À mes amis : **WALID, AYOUB, IMANE, KHAOULA, ASMA, ZAKI ET RACHAD** pour leurs aides leurs soutiens je vous remercie énormément pour les bons moments qu'on a partagés ensemble.*

AMINE

Je dédie avec un grand plaisir et honneur ce modeste travail :

À la plus proche de mon cœur, à ma maman,

La prunelle de mes yeux, celle qui m'a comblée d'amour, qui m'a soutenu et qui a toujours cru en moi.

À mon papa AHMED,

Pour tous ses sacrifices, tous les moyens mis à ma disposition, pour son soutien, ses encouragements et son amour.

À Mes tantes

Que dieu les gardent et les protègent pour moi.

À mes chères frères MOUNIR ET MOHAMMED aussi à ma chère sœur RANIA

Ma confidente pour son soutien dans les moments les plus difficiles.

À surtout Ma cousines B.Boudjemaa,

Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi, pour votre soutien jusqu'à la dernière minute.

À mon binôme Amine.

Pour sa confiance et sa patience

À mes camarades de promotion.

Enfin à toute personne qui reste convaincue que l'effort sincère et honnête est la seule voie vers la réussite et la réalisation de soi.

Yassine

Résumé

Les mammites sont des pathologies des mamelles les plus fréquentes et coûteuses affectants les élevages de bovins laitiers. Le présent travail comparatif a permis d'évaluer l'évolution de la prévalence des mammites staphylococciques dans l'élevage bovin laitier d'une part, et d'autre part l'émergence de résistance aux antibiotiques. A la lumière de nos résultats, la comparaison entre les deux études s'avère que les mammites staphylococciques demeurent l'une des pathologies dominantes avec des prévalences de 76% [IC 95% [62%-90%], 83% [69%-96%] respectivement. Or, l'analyse bactériologique des échantillons de lait mammitieux montre, que presque la moitié des vaches sont atteintes par *S. aureus*. Dans le contexte, le profil comparatif de sensibilité aux antibiotiques étudié a révélé une augmentation de résistance remarquable vis-à-vis de la pénicilline G avec un taux de 58% au lieu de 15%. Nous avons constaté notamment une différence de résistance notable due aux *S. aureus* contre quelques antibiotiques à savoir la Vancomycine, la Gentamycine, le Chloramphénicol et la Clindamycine. Quant à l'Oxacilline et Erythromycine nous avons enregistré, un fort pourcentage alarmant de résistance durant les deux études qui exige une attitude très sérieuse.

Mots clés : Mammites, CMT, Prévalence. *Staphylococcus aureus*, antibiorésistance,

Abstract

Mastitis is one of the most frequent and costly udder diseases affecting dairy cattle farms. The present comparative work has made it possible to evaluate the evolution of the prevalence of staphylococcal mastitis in dairy cattle on the one hand, and the emergence of antibiotic resistance on the other. In the light of our results, the comparison between the two studies shows that staphylococcal mastitis remains one of the dominant pathologies with prevalence's of 76% [95% CI [62%-90%], 83% [69%-96%] respectively. Bacteriological analysis of mastitis milk samples shows that almost half of the cows are affected by *S. aureus*, and the comparative antibiotic sensitivity profile studied revealed a remarkable increase in resistance to penicillin G with a rate of 58% instead of 15%. In particular, we noted a notable difference in resistance due to *S. aureus* against a few antibiotics, namely Vancomycin, Gentamycin, Chloramphenicol and Clindamycin. As for Oxacillin and Erythromycin, we have recorded an alarmingly high percentage of resistance during the two studies, which requires a very serious attitude.

Key words: Mastitis, CMT, Prevalence. *Staphylococcus aureus*, antibiotic resistance.

التهاب الضرع هو مرض الضرع الأكثر شيوعًا والأكثر تكلفة الذي يصيب مزارع الأبقار الحلوب. جعلت هذه الدراسة المقارنة من الممكن تقييم تطور انتشار التهاب الضرع العنقودي في الأبقار الحلوب من ناحية، ومن ناحية أخرى، ظهور المقاومة للمضادات الحيوية. في ضوء نتائجنا، تظهر المقارنة بين الدراستين أن التهاب الضرع العنقودي يظل أحد الأمراض السائدة مع انتشار 76% [95% 62 CI]-90%، [83% 69]-96% [على التوالي]. ومع ذلك، أظهر التحليل البكتيريولوجي لعينات لبن التهاب الضرع أن ما يقرب من نصف الأبقار مصابة ببكتيريا *S. aureus* وفي السياق، أظهر المظهر المقارن للحساسية للمضادات الحيوية التي تمت دراستها زيادة ملحوظة في مقاومة البكتيريا. بنسبة 58% بدلا من 15% لقد لاحظنا بشكل خاص اختلافا ملحوظا في المقاومة بسبب المكورات العنقودية الذهبية ضد بعض المضادات الحيوية مثل فانكومايسين ، جنتاميسين ، كلورامفينيكول وكلينداميسين. أما بالنسبة للأوكساسيلين والاريثروميسين، فقد سجلنا نسبة عالية بشكل مثير للقلق من المقاومة خلال الدراستين مما يتطلب موقفاً جاداً للغاية.

الكلمات المفتاحية: التهاب الضرع، CMT، الانتشار. *Staphylococcus aureus* ، مقاومة المضادات الحيوية.

Listes d'abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AD : Antérieur droite.

AG : Antérieur gauche.

BHIB : Bouillon cœur cerveau « Brain-Heart Infusion Broth »

BP : Baird Parker.

CCI : Comptages cellulaires individuels.

CCS : Comptage des cellules somatiques.

CMT: California Mastitis Test.

IgG: Immunoglobuline G.

PLP : Protéines Liant la Pénicilline.

QPG : quartier postérieur gauche.

QAG : quartier antérieur gauche.

QPD : quartier antérieur droit.

QAD : quartier antérieur droit.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

PD : postérieur droit.

PG : postérieur gauche.

SCN : Staphylocoque à coagulase négatif.

SCP : Staphylocoque à coagulase positif.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

TSST-1: Toxic Shock Syndrome Toxin -1.

Liste des figures

Étude bibliographique :

Tableau 1 : les types des mammites.....	4
Tableau 2 : les principaux agents responsables de les mammites bovins.....	5
Tableau 3 : Estimation du niveau d'infection à partir du TCT.....	6
Tableau 4 : Règle d'interprétation des résultats du CMT.....	12
Tableau 5 : Diagnostic épidémiologique d'élevage combinant la suspicion épidémiologique au diagnostic bactériologique.....	16
Tableau 6 : Evolution des différents paramètres de composition du lait mesurés sur des laits de quartier (Laboratoire de Sciences Animales ; l'ENSALA par.....	17
Tableau 7 : Pronostic de curabilité des infections mammaires subcliniques par un traitement en lactation.....	18
Tableau 8 : Spectre d'activité des antibiotiques présents dans les produits intra mammaire de tarissement.....	20
Tableau 9 : Les différents mécanismes de l'antibiorésistance	28

Étude expérimentale :

Tableau 10 : Matériel du terrain.....	31
Tableau 11 : Matériel de laboratoire	32
Tableau 12 : Comparaison de résultat de CMT des deux études.....	40
Tableau 13 : Comparaison de la prévalence de staphylocoque des deux études.....	41
Tableau 14 : Comparaison de la prévalence de staphylocoque Coagulase + des deux études...	42
Tableau 15 : Comparaison de la prévalence de <i>S. aureus</i> des deux études.....	43
Tableau 16 : Résultats de l'antibiogramme de <i>Staphylocoque aureus</i> de la première étude.....	44

Figure 01 : Localisation de la ferme de l'ITELV (site internet ITELV)	30
Figure02 : Enrichissement des prélèvements de lait sur BHIB.....	34
Figure 03 : Plasma de lapin pour la réalisation de test coagulase.....	35
Figure 04 : Test DNase.....	35
Figure 05 : Test PASTOREX.....	36
Figure 06 : Réalisation de la galerie API Staph.....	37
Figure 07 : Réalisation de l'antibiogramme.....	38
Figure 08 : Résultats du CMT des vaches examinées durant notre étude.....	39
Figure 09 : Résultat comparatif du CMT des vaches examinées durant les deux études.....	39
Figure 10 : prévalence des cultures de staphylocoque.....	40
Figure 11 : Comparaison de la prévalence de staphylocoque des deux études.....	41
Figure 12 : Résultats de test de coagulase.....	42
Figure 13 : Comparaison de la prévalence de test de coagulase des deux études.....	42
Figure 14 : Prévalence <i>des staphylococcus aureus</i> durant la première étude.....	43
Figure 15 : Prévalence <i>des staphylococcus aureus</i> durant la deuxième étude.....	43
Figure 16 : Répartition des résultats d'antibiogramme.....	45

Introduction

La production nationale (toutes espèces confondues) en lait est estimée à 2,5 milliards de litres /an (assurée à 73% par un cheptel bovin laitier), alors que les besoins se chiffrent à plus de 4,5 milliards de litres/an, ce qui montre un déficit criard de près de 60%. De ce fait, l'Algérie a recours chaque année à l'importation de poudre de lait pour combler le déficit, dont le montant représente plus du quart de la facture réservée aux importations (soit 800 millions de Dollars) **(M.A.D.R, 2014)**.

L'une des principales affections du post-partum est « La mammite » qui est considérée comme l'une des pathologies les plus importantes, fréquentes et coûteuses affectant les vaches laitières **(Bradley, 2002 ; Dumas et al, 2004 ; Bout et al,2005)**. La mammite subclinique au tour du vêlage est la plus pénalisante pour les élevages laitiers **(Remy, 2010)**. Elle se traduit le plus souvent sous forme inapparente, sans symptôme ni altération visible du lait. Biologiquement, elle se manifeste seulement par une augmentation du taux des leucocytes et des cellules épithéliales détectées par divers tests de comptage cellulaire et des examens bactériologiques plus poussés. Ces tests permettent d'apprécier l'état sanitaire de la mamelle et d'identifier l'origine à ce problème **(Remy, 2010)**.

En Algérie comme dans la plupart des pays, les mammites bovines constituent une pathologie dominante dans l'élevage bovin laitier, avant les troubles de la reproduction et les boiteries. La prévalence des mammites sub cliniques est estimée à 75% en fin de lactation **(Bouaziz, 2005)** et 57% en début et milieu de lactation **(Niar et al, 2000)** ; tandis que celle des mammites cliniques est de 32,6% **(Bouaziz, 2005)**.

Dans de nombreux pays développés. Une mise sous surveillance systématique et régulière et entreprise au sein des élevages laitiers afin dépister les cas de mammites. En revanche, en Algérie la plupart des élevages ne sont pas soumis à aucun contrôle laitier régulier. La fréquence des mammites clinique et subclinique est élevée **(Beroual, 2003)**.

Chapitre I
Étude
Bibliographique

Partie 1 : Mammmites bovines.

1. Définition des mammmites :

La mammite se définit par l'état inflammatoire d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle quelle qu'en soit l'origine : traumatique, chimique, physique ou biologique, le degré de gravité clinique ou subclinique, l'évolution chronique, aigue ou suraiguë ou la terminaison c'est-à-dire la guérison apparente ou réelle ou la mort de l'animal. Par opposition, sera considérée comme normale, une mamelle sans signe visible d'un état pathologique, avec un lait exempt d'agents pathogènes et des caractéristiques cellulaires et physico-chimiques normales. (Hanzen, 1999).

2. Importance sanitaire des mammmites :

Les mammmites portent atteinte à l'hygiène animale et potentiellement à la santé publique. Le risque zoonotique lié à la contamination du lait par certains germes fait l'objet de préoccupations de santé publique (Seeger, Menard, 1997 ; Bradley, 2002). En effet, l'absence de pasteurisation, des germes pathogènes pour l'Homme provenant de quartiers infectés peuvent contaminer les produits laitiers. Certains sont très étudiés : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, ou *Salmonella*. D'autres le sont moins comme *Escherichia coli*. (Seeger, Menard, 1997).

2.1. Pour le producteur :

Les mammmites représentent une perte financière non négligeable difficile à apprécier dans les formes subcliniques car elles passent le plus souvent inaperçues pour l'éleveur. (Dedert, 2001).

2.2. Pour le transformateur :

Technologiques, d'où des produits de moins bonne qualité. (Fabre et al, 1996 ; Remy, 2002).

De ce fait, la mammite est la pathologie la plus coûteuse pour l'industrie laitière. (Gottschalk, 2000).

2.3. Pour le consommateur :

La sécurité alimentaire du consommateur se trouve atteinte par la présence dans le lait cru de germes pathogènes tels que :

- *Staphylococcus aureus* dont les toxines peuvent entraîner des troubles digestifs graves (Aux Etats-Unis, les coûts annuels dus aux intoxications humaines par *S.Aureus* ont été estimés à 3,3 milliards de dollars) (Eicher et al., 2002).

Chapitre I : Étude bibliographique

• *Listeria* dont les formes graves peuvent entraîner des avortements, des méningites et sont parfois mortelles. Heureusement, les mammites à *Listeria* sont très peu fréquentes. (Tollefson *al.* 1998 ; Taylor, 1999).

• *Les coliformes, Brucella abortus et Mycobacterium bovis* (Sanaa et Menard, 1994 ; Ettriqui, 1999).

3. Les types des mammites :

Dans la mammite clinique, le quartier atteint est enflé et douloureux au toucher, En fonction de la sévérité de la mammite, le lait est en partie coagulé avec des flocons ou des caillots, il peut être décoloré (séparation des caséines du sérum) ou contenir du sang. Dans les cas sévères, la vache montre des signes d'atteinte généralisée : fièvre, augmentation du rythme cardiaque, perte d'appétit et réduction de la production laitière. (Wttiaux, 1999).

La mammite subclinique quant à elle est pratiquement invisible, elle est illustrée par le tableau suivant : l'état général de l'animal est normal, la mamelle apparaît saine et le lait ne présente pas de modifications macroscopiquement visibles. On note cependant, outre la présence de germes à l'examen bactériologique du lait, une augmentation parfois considérable du nombre de polynucléaires à l'examen cytologique. De même que les analyses biochimiques mettent en évidence des variations parfois très importantes de la composition du lait. (Lebret, 1987 ; Anonyme, 1999).

Afin de clarifier les termes qui sont employés tout au long de ce texte, (Tableau 1) présente les définitions et caractéristiques des différents types de mammite.

Chapitre I : Étude bibliographique

Tableau 1 : les types des mammites. (http://qualite-dulait.toujoursplus.fr/les_mammites.php)

Type de mammité	Symptômes caractéristiques ou définition
Clinique aiguë	Inflammation de la mamelle, fièvre de plus de 39°C, sujet faible et déprimé, manque d'appétit. Rendement laitier baisse drastiquement. Suit souvent le vêlage et, de façon moins grave, le tarissement.
Clinique suraiguë	Quartier enflé, chaud, rouge, douloureux. Le lait passe difficilement. Fièvre de plus de 41°C, la vache n'a pas d'appétit, frissonne et perd du poids rapidement. La lactation est souvent interrompue.
Clinique subaiguë	Aucun changement apparent du pis, présence de caillots dans le lait, surtout dans les premiers jets. Sujet bien portant.
Chronique	Attaques cliniques répétées mais peu fortes, généralement sans fièvre. Lait grumeleux, quartiers enflés parfois. Le quartier peut devenir dur (indurations fibreuses). Les traitements antibiotiques ne fonctionnent souvent pas.
Gangréneuse	Le quartier affecté est bleu et froid au toucher. La décoloration progresse du bas vers le haut. Les parties nécrotiques tombent du corps. La vache en meurt souvent.

4. Principaux agents responsables de la mammité bovine :

Nous verrons dans cette section les principaux agents responsables de la mammité bovine, les sources d'infection, le mode de transmission et les méthodes de contrôle de ces infections de la glande mammaire. (Descotaux, 2004)

4.1. Aspects étiopathogénies :

La mammité est une pathologie causée par différents facteurs et dépend d'une série d'interactions complexes, souvent méconnues entre la vache, les microorganismes et leur environnement (Grommet al., 1989). Le germe est responsable de l'infection et est par conséquent l'agent déterminant, mais pour que celui-ci pénètre dans la glande mammaire et s'y installe, au point de provoquer une infection, de nombreux facteurs interviennent (Klastrup et al., 1987), 25%

Chapitre I : Étude bibliographique

de la susceptibilité aux infections sont attribuables aux facteurs environnementaux, 20% aux facteurs génétiques et 50% à la régie du troupeau.

Différentes espèces et sous-espèces microbiennes peuvent être associées à la mamelle de la vache. Parmi les 137 d'entre-elles identifiées (Watts, 1988), plusieurs représentent la flore normale et ne causent, sauf exception, une mammite. Leur présence permet au contraire de protéger le pis des infections par les bactéries pathogènes (Duval, 1995). Selon ce même auteur, 90% des mammites sont causées par : *Streptococcus agalactice*, *Streptococcus dysgalactice*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli* et *Actinomyces pyogenes*.

4.2. Bactéries contagieuses et environnementales :

Les bactéries causant la mammite peuvent être classées selon qu'elles soient contagieuses ou qu'elles proviennent de l'environnement (Tableau 2). Les bactéries classées comme peuvent être transmises d'une vache à l'autre et comprennent entre autres *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, et *Mycoplasma bovis*. Elles causent plus fréquemment une augmentation du CCS ou des mammites subcliniques. Les bactéries environnementales les plus souvent en cause sont les coliformes (*Escherichia coli* et *Klebsiella spp*) et les autres *Streptocoques* (*S. dysgalactiae* ou *S. uberis*). Ces dernières se manifestent généralement par des mammites cliniques (Descotaux, 2004).

Tableau 2 : les principaux agents responsables de les mammites bovins. (Badinand, 1994)

Bactéries	Germe contagieux	Germe environnement
Germes majeurs	<i>Staphylococcus aureus</i>	- <i>E. Coli</i> , <i>Streptococcus uberis</i> - <i>Streptococcus dysgalactiae</i>
Germes mineurs	<i>Staphylococcus</i> à coagulase négative	
Germes moins fréquents	<i>Streptococcus agalactiae</i> Les mycoplasmes	<i>Klebsiella sp</i>

5. Épidémiologie :

5.1. Paramètres indicateurs :

La littérature portant sur les mammites définit trois paramètres permettant de caractériser l'évolution des infections dans un élevage : la prévalence, l'incidence et la persistance (**Bradley, 2003**).

5.1.1. La prévalence :

La prévalence est le nombre de cas par unité de temps. Concernant les mammites, on parle de niveau d'infection. Le niveau d'infection est le nombre de quartiers atteints dans le troupeau à un instant donné. On l'estime grâce au taux cellulaire moyen du lait de tank (TCT) sur 6 mois.

(Tableau 3). (**Bradley, 2003**)

Tableau 3 : Estimation du niveau d'infection à partir du TCT (**Bradley, 2003**).

Taux cellulaire de Tank (×103 cellules/mL)	Pourcentage de quartiers infectés (niveau d'infection)
200	3 – 7%
400	8-12%
800	20-25%

5.1.2. L'incidence :

L'incidence est le taux de nouvelles infections (TNI) par unité de temps. On l'estime par les comptages cellulaires individuels (CCI) des primipares. En effet, la mamelle étant saine avant le part, on estime que toute augmentation des CCI au-delà de 300 000 cell/mL traduit une nouvelle infection. (**Bradley, 2003**).

5.1.3. La persistance :

La persistance est la durée moyenne des infections dans le quartier sur une année ramenée en %. Une persistance de 50% signifie une infection qui a perduré 6 mois dans le quartier.

La persistance et l'incidence varient indépendamment l'une de l'autre. Un même niveau d'infection élevé (TCT=800 000 cellules /ml) peut être dû soit à un TNI de 40% associé à une persistance de 50%, soit à un TNI de 80% et une persistance de 25% (**Bradley, 2003**).

5.2. Facteurs de variations :

5.2.1. Facteurs favorisant la mammite :

Le problème de la mammite est difficile à cerner. Il s'agit d'une maladie causée par plusieurs facteurs. Les micro-organismes sont responsables de l'infection, mais pour que ceux-ci entrent dans les glandes mammaires et qu'ils s'établissent au point de provoquer une infection, une foule de facteurs peuvent intervenir. Ces facteurs (hygiène, stabulation, climat, trayeuses, alimentation, génétique, etc.) sont nombreux et agissent tous en même temps. Il est de plus difficile de généraliser quant à l'importance relative de chacun de ces facteurs, certains facteurs affectant certains microorganismes en particulier. 25 % de la susceptibilité aux infections sont attribuables aux facteurs environnementaux, 20 % aux facteurs génétiques, et 50 % à la régie de troupeau (**Klastrup *et al.*, 1987**).

5.2.2. Facteurs liés à l'animal :

A. Numéro de lactation :

La fréquence des infections augmente avec l'âge de l'animal et le nombre de lactations car il y a : modification morphologique de la mamelle, perte de l'élasticité du sphincter, trayons abimés ou en dessous de linge des jarrets et immunité locale moins efficace (**Wilton *et al.*, 1975**).

B. Stade de lactation :

Au cours du péri partum qui comprend les 15 jours qui précèdent et les 15 jours qui suivent le vêlage, les mauvaises conditions d'hygiène, ainsi que l'augmentation de la sensibilité de la glande mammaire augmentent les risques d'infection par les germes pathogènes d'environnement. Au cours de lactation et de la période du tarissement, on observe surtout une augmentation de la pression pathogène liée aux fermes d'origine mammaire (**Burvenchi *et al.*, 1980**).

C. Niveau de la production laitière :

Des études ont démontré qu'une augmentation annuelle de la production laitière de 54 kg s'accompagnait d'une augmentation de l'incidence des mammites cliniques (**Hanzen, 1999**), plus particulièrement chez certaines races bovines reconnues pour leur potentiel élevé de production laitière. Les races Holstein et FFPN semblent plus affectées (**Bakken, 1982 ; Bunch *et al.*, 1984 ; Oltenacu *et al.*, 1990**).

D. Utérus-glandes mammaires :

Il est démontré que les vaches qui ont une rétention placentaire ont plus souvent des mammites que celles qui n'en ont pas (**Heinonen, 1989**). Elles auraient jusqu'à 3 fois plus de

Chapitre I : Étude bibliographique

chances de faire une mammité (**Schukken et al., 1991**). La mammité est clairement associée à la rétention du placenta dans le cas des mammites causées par Actinomyose pyogenes selon des chercheurs allemands (**Zdunczyk et al., 1992**), ce genre de mammité représentant 17% des cas en Allemagne.

E. Rumen - glandes mammaires :

Le rumen est un organe très important de la vache, et la santé des autres organes dépend souvent de ce qui s'y passe. Lorsqu'une acidose se produit dans le rumen (trop de grain dans la ration par exemple), cela favorise les bactéries comme *Streptococcus bovis* et éventuellement les levures comme *Candida albicans*. Or, bien que ce soit rare, les toxines de ces dernières peuvent voyager dans tout le corps et entretenir les bactéries gram-positives qui envahissent le pis (**Zdunczyk et al., 1992**).

5.2.3. Facteurs liés à l'élevage :

A. l'habitat :

Certaines conditions de logement peuvent favoriser les traumatismes des trayons. La liberté de mouvement des animaux au lever et la surface par animal sont des facteurs importants à considérer vis-à-vis du risque de piétinement (**Grommer et al., 1979**).

B. La litière :

Différents matériaux utilisés comme litière affectent la croissance de différentes espèces de microorganismes et prédisposent aux mammites. La paille est matériau le plus recommandable. (**Brim et al., 1989**).

C. La stabulation :

Les vaches en stabulation libre avec une litière confortable dans l'aire de repos, ont une incidence plus faible de mammites que celles en stabulation libre sur sol dur la fréquence des lésions des trayons est plus élevée en stabulation entravée qu'en stabulation libre et lorsque la litière est insuffisante. (**Ekesho, 1966 ; Milojevic et al., 1988**). Ont constaté 27% moins de cas de mammites subcliniques et 42% moins de mammites cliniques dans les troupeaux en stabulation libre, comparativement à ceux en stabulation entravée. (**Milojevic et al., 1988**)

D. La traite

L'extraction des premiers jets de lait ou prétraite présente plusieurs avantages, cependant elle peut entraîner la contamination des mains du trayeur ou du sol contribuant ainsi à la transmission des germes si des mesures d'hygiène n'ont pas été appliquées. (**Dargent et Molina, 1994**).

Chapitre I : Étude bibliographique

La machine à traire et les techniques de traite peuvent influencer le taux d'infections mammaires par trois types de mécanismes : (**Dargent et molina, 1994 ; Spencer, 198 ; Federici, 1999**).

5.2.4. Facteurs nutritionnels :

Les liens entre l'alimentation et l'apparition des mammites cliniques et subcliniques soulèvent encore des interrogations dans le milieu scientifique. Elles semblent être de nature indirecte :

- L'eau peut constituer une source de contamination en germes butyriques et pathogènes. (**Hanzen, 1999**).

- L'administration de sélénium et de vitamines E diminue la fréquence des mammites : le sélénium permettrait de renforcer la réponse du système immunitaire en accroissant la décharge d'un plus grand nombre de leucocytes et en augmentant l'efficacité des phagocytes. (**Erskine, 1989**).

- Des carences en zinc et cuivre et cobalt ont été régulièrement constatées dans les troupeaux laitiers à forte incidence des mammites. (**Kincaid, 1984**).

- L'apport en vitamine A (vitamine qui garantit l'intégrité de muqueuses) et de β carotène en supplément à des aliments qui en sont surtout carences peut prévenir l'apparition des mammites. (**Grandini, 1984 ; Chew, 1985 ; Paragon, 1991**).

- Le fer joue un rôle important dans la prévention des mammites, il est relié à la lactoferrine. (**Katholm, 1983 ; Nuijens, 1996**)

- Un excès azote ou protéique dans l'alimentation (ou les pâturages sur repousses fortement azotes) est souvent cite comme un facteur favorisant la mammité. (**Bourland, 1998**).

- Il n'y a tout fois pas de lien définitif entre la teneur en protéines de la ration et l'incidence des mammites. (**Madsen *et al.*, 1981**). Par contre, l'effet de l'azote non protéique (urée et ammoniacque) sur l'incidence des mammites est prouvé. Les rations riches en azote non protéique sont particulièrement dures pour les cellules qui protègent le pis. Selon Emmert et Wendten 1991, il y a une relation significative entre le taux d'urée dans le sang et la colonisation bactérienne du pis. (**Emmert et Wendt, 1991**).

Ainsi, l'ajout d'urée à la ration a augmenté la susceptibilité à l'infection et a accru de plus de 16% le nombre d'infection. (**Sterk *et al.*, 1978**).

A. Le climat :

Les recherches de l'influence de la température sur l'incidence de la mammité indiquent que les extrêmes de température interagissent avec d'autres facteurs pour favoriser l'apparition de la mammité mais vont rarement à eux seuls entraîner son apparition (**Klastrup *al.*, 1987**).

Chapitre I : Étude bibliographique

Les extrêmes de température peuvent aussi affecter le nombre de cellules somatiques. On peut donc parler de tendance à la mammite lorsque les températures sont extrêmes. Ainsi, en Floride, une plus grande fréquence de mammite clinique a été notée 3 années sur 7 pendant les périodes très chaudes et très humides. (**Morse al., 1988**).

B. Le stress :

Plus un animal subit du stress dans son environnement, moins son système immunitaire est efficace, et moins il résiste aux invasions microbiennes. Donc, plus il y a de stress, plus les chances de mammites augmentent. Le stress affecte l'intégrité des cellules intra-mammaires, ce qui est un facteur de plus qui favorise la mammite (**Giesecke, 1985**). Voici quelques exemples de sources de stress :

- Une densité excessive d'animaux. La proximité des vaches favorise les échanges microbiens et les relations tendues entre les animaux.
- L'irrégularité dans la régie, l'imprévisibilité du comportement du vacher.
- Le bruit peut être une cause de stress.
- Les tensions parasites.

C. Le besoin du veau :

Au niveau physique, un veau tète sa mère plus souvent qu'elle n'est traite. Les microorganismes qui envahissent un quartier n'ont que très peu de temps pour se développer. Devrait-on traire les vaches plus souvent en début de lactation ?

Des chercheurs slaves sont constatés que la durée et la fréquence de la mammite étaient plus faibles dans les deux mois qui suivaient le vêlage pour les vaches qui nourrissaient leur veau pendant 6 à 10 jours plutôt qu'une heure, 2 jours ou 4 jours (**Tournadre et al., 2005**).

6. Le diagnostic des mammites :

Le diagnostic des mammites repose d'une manière générale sur la mise en évidence des modifications cytologiques, chimiques et bactériologiques de l'état inflammatoire de la mamelle. (**Nielen et al., 1992**).

6.1. Le diagnostic clinique :

L'examen clinique de la mamelle et des sécrétions mammaires constitue le pilier de la démarche diagnostique des mammites cliniques. Il constitue en plus le moyen le plus simple et le moins onéreux. (**Durel et al., 2003**).

Cependant pour être efficace, ce diagnostic doit suivre une démarche précise et méthodique.

Ainsi une étude minutieuse devra porter sur trois points :

6.1.1. Un examen visuel de la mamelle :

Il s'agit d'évaluer les caractères physiques de la mamelle afin de détecter des modifications perceptibles à l'examen de l'animal à distance.

6.1.2. Une palpation de la mamelle :

Elle est réalisée sur une mamelle vide après la traite. Elle permet d'observer la qualité de la peau qui recouvre l'organe, la texture et les anomalies perceptibles dans le conjonctif, la présence de signes inflammatoires (douleur, rougeur, tuméfaction et chaleur), la présence d'une lymphadénite. Cette palpation permettrait un diagnostic précoce de certaines affections et le pronostic des infections anciennes ou chroniques. (Durel *al.*, 2003).

6.1.3. Un examen macroscopique des sécrétions mammaires :

On doit chercher à apprécier les modifications de la qualité des sécrétions mammaires telles que la couleur (jaune au rouge sombre), le goût et l'odeur (odeur d'œuf pourri en cas d'infection par les germes pyogènes), la consistance, la viscosité, et l'homogénéité peuvent aussi être évaluées (Duretal.,2003).

Ainsi, l'examen clinique est essentiel, et la notation des signes cliniques locaux et généraux a en soi une valeur diagnostique et pronostique (mammite aiguë ou subaiguë, grave ou non) (Duretal.,2003)

De plus, il a été tenté d'établir un lien entre les signes cliniques et l'étiologie de l'infection.

6.2. Le dénombrement des cellules du lait :

6.2.1. Les méthodes indirectes :

A. Le Californian Mastitis test (CMT) :

Encore appelé SCHALM et NOORLANDER test. (Schalm, 1957). Ce test d'emploi facile peut être utilisé à la ferme.

Il repose sur le mélange à parties égales d'un agent tensio-actif (solution de Na-Teepol) et de lait. Il en résulte la lyse des cellules et la libération de l'ADN qui est constitué par de longs filaments, formant un réseau qui enrobe les globules gras, la caséine et d'autres particules. Plus les cellules sont nombreuses, plus le réseau prend l'aspect d'un flocculat visqueux et épais. Un indicateur colore, le pourpre de bromocrésol, facilite la lecture en virant au violet foncé quand le PH passe de 6.2 à 7 (Fisher, 1991).

Après lavage, essuyage et élimination des premiers jâts de lait, l'opérateur recueille 2 ml de lait de chaque quartier sur les quatre coupelles d'un plateau auquel il rajoute la même quantité de teepol 10% le mélange doit se faire par un mouvement de rotation du plateau dans plan

Chapitre I : Étude bibliographique

horizontal. La lecture doit être immédiate. Elle est effectuée selon l'aspect du flocculat. Cette gélification dépend de la qualité d'ADN et par conséquent du nombre de cellules présents. (Poutrel *al.*,1999).

L'interprétation de ce test (Tableau 4) dépend beaucoup de l'opérateur et des circonstances de réalisation (un bol sale ou acide peut même le rendre négatif). De plus, il ne doit pas être réalisé sur le colostrum physiologiquement acide ou sur la sécrétion en période de tarissement. (Hanzen, 2000).

D'autres épreuves reposent sur les mêmes bases que le CMT, mais utilisent des réactifs différents. C'est le cas du Michigan Mastitis Test (MMT), du Wisconsin Mastitis Test (WMT), du Brabant Mastitis Test (BMT) et du test de Whiteside. (Hanzen, 2000).

Tableau 4 : Règle d'interprétation des résultats du CMT. (Berthelot et *al.*,1 1987).

Aspect	Couleur	Score	Résultats		Mamelle	
			PH	Taux Cellulaires /ml (10 ³)	Intensité de l'inflammation	Lésions
Aucun flocculat	Gris	0 ou -	6.5-6.5	200	Néant	Mamelle saine ou infection latérite
Léger flocculat	Gris	1 ou +/-	6.6-6.7	200-500	Inflammation légère	Mamelle normale chez une vache À sa septième lactation
Léger flocculat persistant	Gris-violet	2 ou +	6.7-6.8	500-1000	Inflammation d'origine Traumatique ou infectieuse	Mammite subclinique
Flocculat épais adhérent	Violet	3 ou ++	6.8-7.0	1000-5000	Inflammation étendue	Mammite subclinique et Infection bien installée
Flocculat type d'œuf	Violet foncé	4 ou +++	+ de 7.0	Plus de 5000	Inflammation intense	Mammite clinique

Chapitre I : Étude bibliographique

B. Le test de la catalase :

Ce test repose sur l'induction de l'apparition d'oxygène par action de la catalase des leucocytes et des bactéries présentes dans le lait sur le peroxyde d'hydrogène. La formation de 20,30 et 40% de gaz correspond respectivement à la présence de 500000, 1×10^6 et 2 à 3×10^6 cell/ml de lait. Cette méthode nécessite 3 heures de temps et un matériel assez coûteux. Par ailleurs, la formation de gaz s'accroît après 24 heures de conservation. (**Nielen et al., 1992**).

6.2.2. Méthodes directes :

A. Le comptage direct au microscope :

La première méthode directe fut mise au point par (**Prescot et Breed, 1910**). Elle a par la suite servi de référence. Des échantillons de lait de 0,01 ml, colorés au bleu de méthylène, étaient étalés sur une lame de 1 cm^2 (**Le Fol, 1999**). Le comptage des polynucléaires neutrophiles se faisait au microscope à immersion. Cette méthode a été délaissée au profit des méthodes automatisées qui sont beaucoup plus rapides tel que le comptage électronique. (**Badinand, 1994**).

B. Le comptage par le Coulter-Counter :

Bien que les premières études relatives au comptage des cellules somatiques aient été menées par (**Grappin, 1971**). Il s'agit d'une méthode électronique reposant sur la modification du champ électronique créé par le passage des cellules. Le diamètre des cellules que l'on cherche à dénombrer est sensiblement le même que celui des globules lipidiques du lait, c'est pourquoi, il est nécessaire de disperser ces globules gras. Le préchauffage du lait permet son homogénéisation. L'agitation mécanique permet de désagréger les amas cellules- globules gras et le traitement préalable au formaldéhyde permet la fixation des cellules. L'appareil est calibré de façon à ne pas prendre en compte les particules ayant un diamètre inférieur à $4,5 \mu\text{m}$. Cette méthode économique et rapide permet l'analyse de 100 échantillons par minute (**Leray, 1999**).

C. Le système Fossomatic :

Cette méthode qui a été mise en application par (**Grappin et Jeunet, 1974**) repose sur le comptage des noyaux cellulaires rendus fluorescents par l'utilisation d'un colorant, le bromure d'éthidium qui se fixe électivement sur l'ADN. Le procédé prévoit la fixation de l'échantillon sur une lame et son traitement à la chaleur. Un conservateur, le bicarbonate de potassium, autorise la conservation du prélèvement de lait pendant 5 à 6 jours à $+4^\circ\text{C}$ sans altération des cellules. (**Fisher, 1991**). Cette méthode permet l'analyse de 180 prélèvements par heure et semble plus spécifique que le Coulter-Counter car elle ne compte que les cellules à noyaux et

Chapitre I : Étude bibliographique

néglige les amas de caséine, ainsi que les particules inertes pouvant se mêler à l'échantillon et qui ne fixent pas le bromure d'éthidium. (Hanzen, 2000).

D. Diagnostic bactériologique :

Seul l'examen bactériologique autorise l'isolement et l'identification de la bactérie responsable de la mammite et fournit l'échelle de sensibilité de celle-ci aux divers antibiotiques (antibiogramme). Malheureusement, les analyses bactériologiques reviennent assez chères, elles ne sont donc pas réalisées systématiquement. Il convient de les réserver (Berthelot *et al.*, 2001) :

- Pour isoler et identifier les agents bactériens ou mycosiques responsables de mammites cliniques ou subcliniques après échec thérapeutique
- Pour isoler et identifier les agents responsables de flambées de cas cliniques
- Pour confirmer une hypothèse diagnostique, affiner un diagnostic épidémiologique
- A des fins d'enquêtes épidémiologiques ou d'évaluation de l'efficacité d'un médicament

a. Acheminement et conservation des échantillons :

Les prélèvements doivent s'effectuer dans des conditions aseptiques. Les échantillons ainsi prélevés sont utilisables. (Hanzen, 2000) :

- Une heure sans précaution particulière.
- 24 à 48 heures s'ils sont maintenus à +4°C.
- Plusieurs semaines s'ils sont maintenus à une température de -20°C (à condition que la congélation ait été rapide). La congélation est un excellent moyen de conservation des germes responsables de mammites contagieuses tels que les staphylocoques, streptococcus agalactiae et les mycoplasmes. Cependant, elle peut entraîner la disparition des entérobactéries et, par conséquent un résultat faussement négatif. Par ailleurs, elle exclut la possibilité d'un dénombrement des cellules somatiques. (Storper *et al.*, 1982 ; Schukken *et al.*, 1998).

b. Interprétation des résultats :

Il n'existe pas de « flore normale » de la mamelle. (Poutrel, 1985), par conséquent, à condition que les prélèvements aient été effectués dans de bonnes conditions, tout isolement mérite d'être pris en compte. (Hanzen, 2000) :

- Dans 90% des cas, une seule espèce bactérienne est responsable de l'infection.
- L'association de deux espèces bactériennes différentes est généralement rare.
- L'isolement de trois espèces bactériennes différentes ou plus témoigne d'une contamination de l'échantillon pendant le prélèvement.

Des résultats de type « *streptocoque hémolytique* », « *streptocoques du groupe D* » ou encore « *staphylocoques non pathogènes* » sont insuffisants voire non interprétables dans le diagnostic des mammites (Berthelot *et al.*, 2001).

Chapitre I : Étude bibliographique

Certains auteurs préconisent de répéter les prélèvements à 24 ou 48 heures d'intervalle afin de limiter le risque d'obtenir des résultats faussement négatifs, puisque 70% des prélèvements seulement donnent lieu à un résultat positif, (**Erskine *et al.*, 1988 ; Sears *et al.*, 1993**) et il est couramment admis en matière de diagnostic bactériologique des mammites que pour qu'un germe soit rendu responsable d'une mammite, il faut qu'il ait été isolé dans deux ou dans deux prélèvements sur trois effectués à un jour d'intervalle. (**Dosogne *et al.*, 2000**).

Selon (**Seriyes et Farlout, 2001 ; Hanzen, 2005**), un diagnostic épidémiologique d'élevage peut être établi à l'échelle du troupeau en combinant la suspicion épidémiologique et le diagnostic bactériologique (Tableau 5) :

- Des CCI peu élevés traduisent une prévalence relativement faible des mammites subcliniques et le troupeau est exposé à des risques de nouvelles infections par des germes environnementaux. Cette hypothèse peut être confirmée par les mauvaises conditions d'hygiène du logement et de la traite.
- Des CCI modérés indiquent la prévalence d'infections par germes à réservoir mammaires. Cette hypothèse peut être confirmée par les mauvaises conditions de la traite

Chapitre I : Étude bibliographique

Tableau 5 : Diagnostic épidémiologique d'élevage combinant la suspicion épidémiologique au diagnostic bactériologique. (Hanzen, 2005).

Espèce bactérienne	Signes cliniques	CCI (cellules /ml)	Résultat du traitement	Conditions d'élevage
<i>Escherichia coli</i>	Répercussions fréquentes sur l'état général	< 300 000 avant l'épisode clinique	-Pas de rechutes de maintien de 300 000 après traitement	Mauvaises conditions d'hygiène au tarissement et au vêlage
<i>Streptococcus uberis</i>	Le plus souvent pas de répercussions sur l'état général	Fréquemment >300 000 à plusieurs contrôles après le traitement en lactation	Les infections persistantes sont le plus souvent guéries par un traitement en lactation	Mauvaises conditions logement en lactation et/ou au tarissement
<i>Staphylococcus aureus</i>	Mammites cliniques discrètes avec tendance à la chronicité (Zones d'indurations dans les quartiers atteints)	Le plus souvent > 300 000 Avant l'épisode clinique	Rechutes cliniques après traitement en lactation -CCI > 300 000 jusqu'au tarissement	Défaut de trempage

E. Diagnostic par mesure de la conductivité électrique :

Des études ont montré que le développement d'une mammite subclinique va de pair avec une augmentation de la salinité (concentration en ions Na⁺ et Cl⁻) du lait, entraînant une diminution immédiate de la résistance électrique. (Schroeder et al., 1998).

La mesure « on-line » (en continu) de la conductivité électrique du lait est une méthode rapide, non contraignante pour les trayeurs. Elle peut s'effectuer soit sur le lait de mélange des quatre quartiers soit quartiers par quartier (Ognean et al., 2004).

La conductivité du lait de vache varie en fonction de l'état de santé et de l'état physiologique des vaches. Il y a aussi des effets « race » et même des effets « troupeau ». Elle est en général comprise entre 4 et 5,5 mili-Siemens/cm. (Billon et al., 2001 ; Ognean et al., 2003).

Chapitre I : Étude bibliographique

F. Diagnostic biochimique :

Globalement, lors d'épisodes de mammites on observe Une augmentation de la teneur en protéines solubles (immunoglobulines) ; Une augmentation de la teneur en chlorures ; Une augmentation de pH ; Une diminution du pourcentage de caséines ; Une augmentation des activités enzymatiques protéolytiques et lipolytiques. (**Le roux, 1999**) (**Tableau 6**).

Tableau 6 : Evolution des différents paramètres de composition du lait mesurés sur des laits de quartier (Laboratoire de Sciences Animales ; l'ENSALA par (**Le Roux, 1999**)).

	Protéines solubles (g /l)	% de caséines	PH	Chlorures (G/l)	Temps de coagulation (Min)
<100 000/ml	6,9	79,7	6,58	1,33	22,4
>100 000 <300 000/ml	8,0	77,5	6,58	1,59	34,1
>300 000 <600 000/ml	8,6	76,2	6,63	1,73	36,6
>600 000/ml	9,3	72,4	6,75	1,88	54,1

7. Traitement des mammites :

La mammite subclinique chez les vaches passe souvent inaperçue et donc peut ne pas être traitée pendant de longues périodes (**Hillerton et Berry,2003 ; Oliver et al., 2004**).

L'utilisation des antibiotiques sans aucun test préalable est une cause d'échec du traitement liée à la résistance des bactéries aux antibiotiques, les staphylocoques sont des bactéries qui ont une résistance liée à des souches produisant un ferment délitant la pénicilline. (**Weisen,1974**).

7.1. Traitement pendant la lactation :

Longtemps, le traitement en lactation des mammites subcliniques a été contre indiqué car jugé non rentable économiquement, mais avec les progrès scientifiques, le traitement antibiotique en lactation est à reconsidérer du point de vue économique (**Remy,2010**).

En effet, les avantages qu'on en tire sont multiples (**Duretal.,2011**) :

- Contrôler l'expansion du nombre de vaches infectées dans le troupeau.

Chapitre I : Étude bibliographique

- Favoriser le retour en production.
- Eviter autant que possible les évolutions dramatiques de mammites cliniques.
- Réduire le nombre de vaches qui seront réformées pour des mammites persistantes, ou de quartiers improductifs.

Sa mise en œuvre doit donc absolument être raisonnée et nécessite la prise en compte obligatoire des divers éléments indiqués ci-dessous :

7.1.1. Le choix des animaux à traiter :

Le premier réflexe serait de sélectionner les animaux qui présentent les numérations cellulaires (CCS) les plus élevées, or ce choix n'est efficace que si l'objectif est de baisser temporairement le niveau cellulaire du lait de tank uniquement pour les animaux qui présentent des chances réelles de guérison, c'est pourquoi il est nécessaire d'examiner la mamelle et tous les éléments concernant l'historique de l'infection afin de déterminer le ou les quartiers atteints (par exemple en réalisant un (CMT) ce qui permettra d'évaluer les chances de guérison (**Remy, 2010**).

7.1.2. Le choix des infections à traiter :

Un traitement de mammite subclinique devrait toujours être un traitement ciblé. En effet, l'infection est alors établie depuis un certain nombre de semaines, et son élimination va toujours être plus délicate, le germe en cause ayant eu le temps de coloniser la mamelle en profondeur. Les chances de réussite vont alors dépendre du germe mis en évidence et de la durée de l'infection. (**Remy, 2010**).

Tableau 7 : Pronostic de curabilité des infections mammaires subcliniques par un traitement en lactation (**Remy, 2010**).

Mauvais pronostic	Pronostic correct	Bon pronostic
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la pénicilline	<i>Streptococcus uberis</i>	Autre streptocoques
Staphylocoques à coagulase négative multiantibio résistant	Entérocoques	Staphylocoques à coagulase négative antibiosensible
Entérobactéries	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la pénicilline	Peu de CCS élevées avant traitement

7.2. Traitement au tarissement :

Le traitement au tarissement des vaches s'est imposé comme une mesure phare du contrôle des infections mammaires, il est facile à mettre en œuvre, ses résultats sont bien supérieurs à ceux du traitement en lactation car la dose d'antibiotique est plus élevée et la concentration est maintenue dans la mamelle (absence de traite) (**Royster., Wagner. 2015**)

En effet le taux de guérison des mammites subcliniques durant la lactation est de 50% en moyenne contre 70-80% au tarissement.

Le traitement au tarissement a deux objectifs

- Traiter la majorité voire la totalité des mamelles infectées.
- Prévenir les nouvelles infections lors de la lactation suivante.

Ce traitement est effectué soit systématiquement, ce qui est le cas dans la majorité des fermes, soit sélectivement dans les fermes où les exigences du consommateur ont obligé l'éleveur à arrêter le traitement systématique (**Bergonier,2010**).

7.2.1. Protocoles de traitements antibiotiques au tarissement et autres traitements :

Le traitement au tarissement est un paramètre incontournable de la bonne gestion d'un troupeau laitier, il existe deux stratégies de traitements (**Remy,2010**).

A. Traitement uniforme :

Consiste à traiter tous les quartiers de toutes les vaches qui sont conservées dans le troupeau.

C'est la procédure standard utilisée dans les troupeaux où la situation sanitaire est mauvaise (>25% de vaches avec $CCSI > 300.000$ cell/ml au tarissement) ou qui ne dispose pas du minimum technique requis (CCSI mensuelles), c'est la stratégie qui s'impose. Malheureusement pour les troupeaux bien conduits, ce traitement uniforme conduit à administrer des antibiotiques à une majorité d'animaux sains, et qui n'en ont besoin que pour prévenir une éventuelle infection tardive (**Duret *al.*,2011**).

B. Traitement différencié :

Dans les élevages où le statut infectieux des vaches est connu au moment du tarissement, un traitement « à la carte » pourra être mis en place. L'intérêt d'un traitement différencié est d'appliquer à chaque vache la spécialité de tarissement la plus adaptée : le produit préventif le plus performant pour les vaches saines, la stratégie thérapeutique optimale pour la vache infectée (**Remy,2010**).

Chapitre I : Étude bibliographique

7.3. Les antibiotiques :

Traitement intra mammaire : Le traitement le plus répandu, consiste à administrer dans chaque quartier, après la dernière traite, une pommade ou une solution composée avec un ou deux antibiotiques (**Duretal., 2011**).

Tableau 8 : Spectre d'activité des antibiotiques présents dans les produits intra mammaire de tarissement (**Remy, 2010**).

Antibiotiques	Bactéries Gram +	a <i>Staphylococcus aureus</i> résistant a la pénicilline	Bactéries Gram
Pénicilline pénéthamate	+++	-	-
Cloxacilline/Nafcilline	+++	+++	-
Céphasoline/Céphalexine	+++	++	-
Céphalonium	++	++	++
Céphquinome	++	++	++
Dihydrostreptomycine	+	++	+++
Néomycine/Framycétine	+	++	+++
Riphaximine	+++	++	-

7.4. Traitement par voie générale :

On manque de preuve pour affirmer que l'administration conjointe d'un antibiotique par voie générale augmente significativement les effets curatifs ou préventifs d'un traitement intra mammaire (**Duretal.,2011**).

7.5. Autres traitements

7.5.1. Fluidothérapie :

Lors de déshydratation et surtout de choc, la fluidothérapie est la base du traitement de réanimation. L'état de choc est provoqué lors de mammites par la libération d'endotoxines par les agents pathogènes comme les entérobactéries ou par des exotoxines produites par les staphylocoques, les streptocoques, les clostridies et *Trueperella pyogenes* (**Le Page et al., 2014**).

7.5.2. Les antis inflammatoires :

Le recours aux AIS est controversé. Ils seraient intéressants dans le traitement des mammites endotoxiques pour améliorer la guérison mais favoriseraient des infections cliniques chez les vaches ayant une mammite subclinique à Staphylocoques via la baisse de l'immunité qu'ils peuvent induire (**Le Page et al., 2014**).

7.6. Réforme des vaches marmiteuses :

La réforme des animaux infectés est une méthode efficace de lutte contre les mammites incurables. Il s'agit cependant d'une tactique qui connaît des limites. (**Duretal.,2011**).

La décision de réforme pour motif de santé mammaire est fondée sur l'évaluation de l'état sanitaire des mamelles, on doit prendre en compte la récidivité ; la chronicité ; un examen physique ; Examen bactériologique ; Age et nombre de quartiers infectés ; Niveau d'infection dans le troupeau ; Niveau de guérison dans le troupeau (**Duretal., 2011**).

8. Prophylaxie :

Les mesures préventives doivent s'appuyer sur les résultats des CCI ainsi que sur l'enregistrement des cas cliniques pour déterminer les réservoirs dominants, à partir de l'évaluation de la prévalence, de la persistance et de l'incidence de nouvelles infections. (**Seegers, 2002**).

8.1. Prophylaxie médico-sanitaire :

La prophylaxie médico-sanitaire repose principalement sur :

8.1.1. La vaccination :

La mise au point de vaccins efficaces est difficile de par la diversité des espèces bactériennes, des souches et par conséquent les antigènes appropriés d'une part, Et l'insuffisance relative aux mécanismes immunitaires de la mamelle d'autre part. (**Rainard et al.,1991**).

Il n'existe pas de prévention vaccinale efficace vis-à-vis des mammites staphylococciques. (**Meunier, 1999**) et les pistes de vaccination notamment pour les hémolysines et les protéines de surface intervenant dans la virulence, et les techniques d'immunisation à l'ADN nées du génie génétique sont encore en cours d'exploitation (**Lacasse, 2001**). Pour *Streptococcus uberis*, des recherches en matière de vaccination se sont concentrées ces dernières années sur l'inhibition de la colonisation de la mamelle en agissant sur des cibles de l'appareil biochimique de cette bactérie qui interviennent dans l'acquisition des nutriments (**Seriyes, 2003**).

8.1.2. Le traitement au tarissement :

Le traitement au tarissement permet d'agir à titre curatif sur les infections préexistantes et à titre prophylactique sur celles pouvant s'installer au cours de cette période (**Seriyes, 1997**).

8.2. Mesures générales préventives :

Pour les mammites à réservoir mammaire, les mesures prophylactiques visent à empêcher la contagion à l'occasion de la traite. Pour les mammites à source environnementale, il s'agit prioritairement de veiller aux conditions d'ambiance et à l'hygiène du logement avec une attention particulière pour les aires de couchage (**Seegers *et al.*, 2002**). D'une manière générale la prophylaxie repose sur : (**Fetrow, 1988 ; Labbé, 2003**).

- L'hygiène du logement : le paillage doit être effectué chaque jour avec 1,2 Kg de paille /m². Le fumier doit être curé de préférence 2 fois par jour.
- L'hygiène de traite et l'utilisation de serviette individuelles.
- L'hygiène de la machine à traire.
- Le trempage ou la pulvérisation des trayons avant et après la traite.
- La réforme des cas chroniques incurables.
- La sélection pour l'amélioration génétique de la résistance aux mammites, fondée sur la diminution des numérations cellulaires du lait.
- Elle doit permettre une réduction des mammites subcliniques ainsi qu'une réponse indirecte.

Partie II : *Staphylococcus aureus*

1. Historique :

Les Staphylocoques ont été découverts dans un pus par Louis Pasteur en 1880. En 1883, Alexander Ogston a créé le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains (kokkos) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (Staphylos). En 1884, Anton Julius Friedrich Rosenbach qui donnera la première description du genre du *Staphylococcus* après l'avoir cultivé sur milieu solide et différencié ainsi *Staphylococcus aureus* de *Staphylococcus epidermidis* par la coloration des pigments produits par les colonies (**Vandepitte, 1994**).

En 1976 L'introduction de techniques génomiques a permis de différencier Le genre *Staphylococcus* de celui des *Micrococcus* par l'étude de leur ADN et de leur contenu en guanine et cytosine (GC %), qui est faible pour les *Staphylococcus* (30 à 38 %) mais élevé pour les *Micrococcus* (65 à 75 %) (**Perez, 2013**).

2. Taxonomie :

D'un point de vue taxinomique, plus de 50 espèces et sous-espèces ont été répertoriées au sein du genre *Staphylococcus*, qui appartiennent à la famille des *Staphylococcaceae*. (**Le Loir et Gautier, 2010**).

3. Habitat :

Staphylococcus aureus ou Staphylocoque dorée est une bactérie ubiquitaire qui peut vivre comme saprophytes dans la nature (sol, air, eaux, aliments...). Elle colonise les territoires cutanés en particulier, les zones humides (aisselles, périnée...) et les mains. Commensale de la peau, les muqueuses dont la niche principale est la fosse nasale des humains et des animaux qui constituent un site de portage de staphylocoques (**Werckenthin et al., 2001**) (**Djebib al., 2015**).

En effet, les *S. aureus* sont des bactéries saprophytes qui s'avèrent particulièrement pathogènes lors de circonstances favorables à leur développement (**Le Loir et al., 2009**).

S. aureus peut être responsable de la contamination des aliments d'origine humaine, liée à la matière première (carcasses animales, lait cru) ou survenir au cours du procès, en raison de défauts d'hygiène du matériel de production (contamination croisée) (**Benbouabdellah et al., 2015**).

4. Caractères généraux :

4.1. Caractères bactériologiques :

Les *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif de 0.5 µm à 1µm de diamètre, réguliers, isolés ou groupés en diplocoques ou le plus souvent en amas ayant la forme de grappes de raisin. Elles sont immobiles, non sporulés et souvent capsulé mais les souches peuvent perdre leur capsule par culture (**Pilet et al., 1979 ; Hart et al., 1997 ; Denis, 2011**).

Ils sont capables de se multiplier en milieu ordinaire en 18-24 h, avec un optimum thermique à 37 °C et un pH neutrophile compris entre 7,4 et 7,6 (**Pilet et al., 1979 ; Flandrois, 1997 ; Chaalal, 2013**).

Les *Staphylococcus aureus* présentent sur la gélose profonde une croissance sur toute la hauteur du tube signant le caractère aéro-anaérobie facultatif. Poussent sur milieux usuels simples et sur le milieu sélectif Chapman (hypersalé à 7% de NaCl), en donnant des colonies jaune rondes, lisses, bombées et opaques avec fermentation du mannitol. En bouillon, la culture de *Staphylococcus aureus* forme un trouble uniforme abondant parfois un dépôt et un voile en la surface (**Le Loir et Gautier, 2010**).

Les *Staphylococcus aureus* se distingue de la majorité des autres staphylocoques par la production d'une coagulase, d'un pigment jaune (doré) à jaune-orange grâce à leur caractère mannitol + et par l'apparition de zones claires en périphérie des colonies qui traduit leur caractère bêta-hémolytique sur gélose au sang (**Denis, 2011 ; Benbouabdellah et al., 2015**).

4.2. Caractères génomiques :

Staphylococcus aureus possède un chromosome circulaire unique d'environ 2,8 Mb à faible teneur en guanidine et cytosine (30 à 39 %), classant *S. aureus* parmi les bactéries gram positives à faible GC% (**Accarias, 2014**).

Le génome de *S. aureus* est formé de deux domaines fonctionnels distincts :

- La majeure partie du chromosome (75%) appelé « core » contient les gènes qui assurent le métabolisme de la bactérie (**Lindsay et al., 2004**).
- La deuxième partie du génome (environ 25%) est constituée d'éléments génétiques accessoires et mobiles comme des plasmides, transposons, prophages ou des îlots de pathogénicité portant la plupart des gènes associés à des facteurs de virulence et à la résistance aux antibiotiques (**Lindsay et al., 2004**).

5. Facteurs de virulence :

Les facteurs de virulence sont des protéines synthétisées par les souches bactériennes de *Staphylococcus aureus*. Ils servent à initier l'infection en permettant l'adhésion de la bactérie aux cellules hôtes favorisant son extension (**Zaara, 2013 ; Verdier, 2015**).

Ils sont également impliqués dans la protection de la bactérie contre le système immunitaire lors de sa progression dans l'organisme. On distingue : Les protéines de surface (adhésines) qui permettent la colonisation de l'hôte, des enzymes qui conduisent au développement et à l'extension de l'infection et des toxines spécifiques responsables de syndromes toxémiques (**Pilet, 1979 ; Franklin et al., 1998 ; Chalaal, 2013 ; Verdier et al., 2015 ; Djerbib 2015 ; Aissani et al., 2018**).

6. Infection intra mammaire des bovins par *Staphylococcus aureus* :

6.1. L'impact des mammites au *Staphylococcus aureus* :

La mammite est la principale cause des pertes économiques dans les troupeaux bovins laitiers (**Peton et Le Loir, 2014**).

Staphylococcus aureus est considéré comme étant l'agent pathogène mammaire causant les plus grandes pertes économiques au niveau de l'industrie des bovins laitiers. Les infections causées par *S. aureus* sont plus dommageables pour le tissu sécrétoire suite à la production de toxines par cet organisme (**Akers, 2002**).

Les IIM causées par *S. aureus* peuvent devenir chroniques étant donné la capacité de la bactérie à se localiser à l'intérieur des cellules empêchant ainsi le système immunitaire de la reconnaître et de l'éliminer (**Sears et McCarthy, 2003**).

Chapitre I : Étude bibliographique

Autant, cet organisme a tendance à s'établir dans le tissu et les alvéoles des régions profondes du pis ce qui peut générer des abcès (Akers, 2002 ; Barkema et al., 2006).

6.2. Pathogénie des mammites au *Staphylococcus aureus* :

Le franchissement du canal du trayon livre aux bactéries l'accès à la lumière de la glande, où elles entament leurs multiplications en présence du lait résiduel. Chez les ruminants, seul un petit nombre de facteurs de virulence est directement impliqué dans les différentes phases de l'infection mammaire : l'adhésion, l'échappement aux défenses de l'hôte et l'invasion du tissu mammaire (Rainard et Gilbert, 2010).

6.3. Adhésion des *Staphylococcus aureus* aux cellules hôtes :

L'adhésion de *Staphylococcus aureus* aux membranes cellulaires de l'hôte, est assurée par un groupe d'adhésines appelés « Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules » (MSCRAMM)(Oviedo-Boyso et al.,2007). Cette bactérie produit un grand nombre de protéines qui se lient à la fibronectine (FnBP), au fibrinogène, au collagène, à la vitronectine et à l'élastine. De plus, *S. aureus* produit quatre protéines extracellulaires capables de se lier au fibrinogène : la coagulase, la protéine de fibrinogène extracellulaire (Efb), les protéines d'adhérence extracellulaires (Eap), qui se lient soit au fibrinogène ou à la prothrombine, et une protéine de matrice de liaison extracellulaire (Oviedo-Boyso et al.,2007).

6.4. Echappement aux défenses de l'hôte :

La protection vis-à-vis du système immunitaire de l'hôte est assurée par des protéines permettant aux bactéries d'inhiber la chimiotaxie des neutrophiles, d'éliminer les leucocytes et résister à la phagocytose et de protéger contre les peptides antimicrobiens et le lysozyme (Foster, 2005). La toxine alpha est toxique pour les neutrophiles, (Prévost et al.,2001).

La perturbation de la réponse immunitaire par les entérotoxines agissant comme des superantigènes sur les lymphocytes T est supposée participer au maintien des infections mammaires sur de longues périodes (Ferens et Bohach, 2000).

6.5. Invasion du tissu mammaire :

Il a été montré que des cellules épithéliales mammaires et des macrophages isolés du lait de glandes infectées naturellement par *Staphylococcus aureus* contiennent des staphylocoques, et que dans la plupart des cas, ces bactéries sont cultivables, ce qui indique qu'elles peuvent survivre en situation intracellulaire (Hebert et al.,2000).

Les cellules hôtes infectées pourraient rapidement subir l'apoptose ou la nécrose se manifestant comme des effets cytotoxiques ou, alternativement, montrent peu ou pas de cytotoxicité (Garzoni et Kelley, 2009).

Chapitre I : Étude bibliographique

S. aureus pourrait s'organiser en micro-colonies puis développer un biofilm à une phase tardive du processus infectieux et induire une mammite moins sévère, mais plus persistante et plus résistante aux traitements par les antibiotiques (**Cucarella et al., 2004**).

Enfin, la toxine alpha est considérée comme responsable des formes suraigües et gangréneuses, en particulier par son action vaso-constrictrice qui produirait une nécrose ischémique (**Prévost et al., 2001**).

7. Toxi-infections de *Staphylococcus aureus* :

La mammite à *S. aureus* est également un problème potentiel de santé publique, étant donné que plus de la moitié des souches impliquées dans les infections intra mammaires possèdent des gènes d'entérotoxines. L'excrétion dans le lait à partir des glandes infectées est généralement modérée (moins de 10 000 UFC/mL), mais la contamination du lait de tank peut conduire à une intoxication alimentaire à *Staphylococcus* via des produits laitiers fermentés crus (**Peton et Le Loir, 2014**).

Partie 3 : l'antibiorésistance

1. Antibiotique :

Les antibiotiques sont des molécules naturelles à activité antibactérienne essentiellement, produites à l'origine par des bactéries ou des champignons et utilisées à grande échelle en médecine depuis un peu moins d'un siècle. Les antibactériens peuvent être naturels ou synthétiques et chaque famille a des propriétés spécifiques : le spectre d'activité, le mécanisme d'action et l'activité bactéricide ou bactériostatique (**Benoit et al., 2019**).

2. Antibiothérapie à usage vétérinaire :

Les antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire appartiennent aux mêmes familles, à l'exception de quelques sous familles spécifiques de la médecine humaine. Ils peuvent être administrés par voie orale, parentérale ou topique (**Phillips et al., 2004**).

Certaines particularités de la pharmacopée vétérinaire par rapport à la pharmacopée humaine peuvent être répertoriées :

- En médecine vétérinaire, le coût du traitement doit être pris en compte. Pour des raisons économiques, les vieilles molécules efficaces telles que les pénicillines et les tétracyclines sont largement utilisées.
- En médecine vétérinaire, certaines familles d'antibiotiques sont sous-développées par rapport à leurs apparentés actuellement en usage humain.

Chapitre I : Étude bibliographique

- Un nombre très limité de nouvelles molécules ont été introduites dans la médecine vétérinaire et peu de nouveaux antibiotiques sont en cours d'élaboration.
- Des molécules ont été seulement introduites dans la médecine vétérinaire, comme la tylosine. Des molécules introduites dans la médecine humaine n'ont pas été introduites dans la thérapie des animaux, comme par exemple, la troisième génération de céphalosporines, l'amikacine (Schwarz *et al.*, 2001).

3. Antibiorésistance :

La résistance bactérienne aux antibiotiques ou antibiorésistance est un phénomène de portée universelle, il n'a cessé d'augmenter de manière progressive au cours de ces dernières années. Ce problème de santé publique touche à la fois la santé animale et la santé humaine (Faye, 2005). L'antibiorésistance est une réponse physiologique des bactéries à tout usage d'antibiotique ce qui est définie : « Comme étant la capacité d'une bactérie spécifique à survivre en présence d'un antibiotique qui a été initialement efficace pour traiter les infections causées par la bactérie » (Chancey *et al.*, 2012).

Ainsi, elle est définie selon, les microbiologistes par : « une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle dispose d'un mécanisme de résistance augmentant la valeur de la concentration minimale inhibitrice » (Belmamoun, 2016).

4. Origine de l'antibiorésistance :

L'antibiorésistance est une réponse physiologique de la bactérie. Cette réponse peut être naturelle ou acquise au cours du temps (Coustès, 2016).

4.1. La résistance naturelle :

C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait, donc, partie du patrimoine génétique normal du germe. La résistance due aux propriétés intrinsèques physiologiques, biochimiques ou structurales de la bactérie qui sont indépendantes de tout contact avec un antibiotique. (Membrane externe, efflux actif, capsule, matrice des biofilms) (Guillemot *et al.*, 2006).

La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire (Lozniewski *et al.*, 2010).

4.2. La résistance acquise :

La résistance acquise entraîne la résistance à un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était sensible auparavant. Cette résistance peut survenir via une mutation (directement sur le chromosome bactérien) Cette acquisition peut être la conséquence d'un transfert horizontal

Chapitre I : Étude bibliographique

(Guillemot et al., 2006). Ou plus fréquemment par acquisition de matériel génétique mobile (plasmide, transposon, intégrons ou encore sur des phages) permettant dans les deux cas de contourner l'effet délétère de l'antibiotique (Aboya Moroh, 2013).

5. Mécanismes de l'antibiorésistance :

Les mécanismes permettent aux bactéries de résister face à un antibiotique. Sont présentés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Les différents mécanismes de l'antibiorésistance (Coustès, 2016, Lozniewski et al., 2010, Pascale, 2014).

Mécanismes de résistance	Conséquences
Inactivation enzymatique	Production d'une enzyme modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité Mécanisme de résistance le plus répandu.
Réduction de la perméabilité	Changements de perméabilité de la paroi ou de la membrane bactérienne empêchant l'antibiotique d'atteindre sa cible.
Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique	La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie.
Inaccessibilité à la cible	Antibiotique éjecté de la cellule par transport actif et site d'action devenant inaccessible.
Protection de la cible de l'antibiotique	C'est une protection réversible de la cible (par des protéines empêchant la fixation des quinolones, par exemple).
Piégeage de l'antibiotique	Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible.

6. Antibiorésistance de *Staphylococcus aureus* :

S. aureus est un pathogène redoutable qui a su développer des résistances à chaque nouvel antibiotique introduit depuis un demi-siècle. La plasticité de son génome lui confère la capacité de s'adapter à toutes les conditions environnementales, et notamment d'acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques et de développer des mécanismes de régulation pour s'adapter à des concentrations croissantes d'antibiotiques (**Dumitrescu et al., 2010**).

En 1941, toutes les souches de *S. aureus* semblaient sensibles à la pénicilline G. Dès 1944, est apparue les staphylocoques résistants à la pénicilline, grâce à l'acquisition d'une pénicillinase plasmidique, enzyme dégradant la pénicilline. Une pénicillinase qui maintenant concerne plus de 95% des souches cliniques (**Andriatsitohanana, 2016**).

Pendant les années 1950 sont apparues les souches de *S. aureus* multirésistantes : à la résistance à la pénicilline était associée la résistance à la streptomycine, à l'érythromycine, à la tétracycline, au chloramphénicol ainsi qu'aux sulfamides. En 1959 l'introduction de la méticilline, dérivé semi-synthétique de la pénicilline pour le traitement des infections staphylococciques a soulevé un grand espoir. Mais à peine un an plus tard, les premières souches hospitalières de *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) sont apparues (**Oliveira et al., 2002**).

Chapitre II

Étude Expérimental

1. Objectif d'étude :

Le présent travail a eu par conséquent comme objectif d'étudier l'évolution de la prévalence des mammites staphylococciques et leur profil de résistance vis-à-vis les principaux antibiotiques utilisés. La réalisation de notre étude s'articule sur deux volets

Le premier, concerne une estimation de la prévalence des mammites staphylococciques bovines et le profil de résistance des souches isolées.

Le deuxième volet, est basée sur une comparaison entre nos résultats avec une même étude réalisée en 2018.

2. Durée et lieu de l'étude :

Cette étude a été menée au sein de la Ferme de l'ITELV de Baba Ali, dans une période s'étalant entre le mois de décembre 2019 et le mois de Janvier 2020.

3. Présentation de la zone d'étude :

La Ferme de Démonstration et de Production de Semences (FDPS) de Baba Ali est une entité de l'Institut Technique des Elevages, elle est située en face de la rentrée principale de la direction générale de l'ITELV ; un établissement public à caractère administratif a vocation technique, créé par décret exécutif n 99/42 du 13 février 1999. Situé à 29 Km d'Alger (25m d'altitude, 36° 40' de latitude nord et 3°05' de longitude est) à Baba Ali dans la commune de Birtouta (Alger).



Figure 01 : Localisation de la ferme de l'ITELV (site internet ITELV).

Chapitre II : Étude expérimentale

4. Matériels utilisés :

4.1. Matériel biologique :

L'étude a porté sur la qualité bactériologique du lait prélevé d'un échantillonnage de 30 vaches laitières, les vaches sont de différentes races et à des différents stades de lactation.

4.2. Matériel non biologique :

Le matériel non biologique est constitué de :

- Matériel du terrain pour le nettoyage et la désinfection, la détection des mammites subcliniques et pour le prélèvement du lait
- Matériel de laboratoire bactériologique.

Tableau 10 : Matériel du terrain.

Nettoyage et désinfection	Détection des mammites subcliniques	Prélèvement et conservation
- Eau ordinaire - Papier à usage unique - Eau de javel diluée - Lavettes individuelles. - Désinfectant à base d'iode (iododad) - Porteuse d'iododad	- Flacon de teepol® incolore - Picette porteuse de teepol® - Pourpre de bromocrésol. - Coupelle alvéolée	- Tubes stériles - Glacière - Cryo-conservateurs - Réfrigérateur ou congélateur.

Chapitre II : Étude expérimentale

Tableau 11 :Matériel de laboratoire.

Milieux de culture	Les réactifs/colorants	La verrerie/consommable	Autre matériel
- Chapman. - ADNase. - GN (gélose nutritive) - Bouillon cœur cervelle (BHIB) - Baird Parker (BP) -Muller Hinton -La galerie API Staph.	- Fuchsine -Violet de Gentiane -Lugol -l'huile de vaseline -Alcool - Zym A et Zym B, VP1, VP2, NIT1, NIT2 -Kit PASTOREX -Plasma du lapin -HCl, -Disques d'antibiotiques -Eau oxygénée -Eau physiologique -Eau distillée	-Boîtes de Pétri. -Tubes en verre stériles. - Lames à microscope. -Pipettes pasteur. -Seringues de 5ml. -Anse de platine -Ecouillons - Pince -Portoirs - Les gants	-Bec Bunsen -Microscope photonique -bain marie -Etuve. -Four pasteur -Réfrigérateur -Autoclave

5. Méthodes Utilisées :

5.1. Test de CMT :

Le California Mastitis Test (CMT) encore appelé leucocyte est a été appliqué sur le lait de chaque quartier prélevé de vache. Le test est rapide, peu coûteux et pratique à réaliser au chevet de la vache. Il peut également être réalisé par l'éleveur, ce qui permet d'avoir un suivi. Il est utilisé pour :

- Connaître le statut sanitaire d'une vache.

Chapitre II : Étude expérimentale

- Déterminer le ou les quartiers à analyser et à traiter chez une vache possédant un CCSI élevé.
- Diagnostiquer des mammites Subclinique durant la lactation.

Pendant la période de deux études ils ont eu tester tous les quartiers fonctionnels des vaches. Un résultat positif (score ≥ 2) indique une probabilité élevée d'avoir une concentration cellulaire dans le quartier, supérieure à 800 mille cellules/ml. Par contre, pour les statuts intermédiaires (douteux) CMT=1, le test devrait être répété plusieurs fois (**DUREL et al., 2003**) annexe n°2.

6. Méthode de prélèvement du lait de vache :

Les prélèvements ont été fait en respectant certaines conditions d'asepsie pour éviter que le lait soit contaminé par des germes provenant de la peau de la mamelle ou de l'environnement

6.1. Nettoyage de la mamelle :

Pour réussir un prélèvement de bonne qualité, nous avons désinfecté nos mains et à l'aide d'une lavette trempé dans de l'eau + de l'eau de javel diluée, nettoyé le mamelon de chaque glande mammaire.

Ainsi, lorsque la vache est abordée à droite, la désinfection des trayons est réalisée dans l'ordre suivant : quartier postérieur gauche (QPG), quartier antérieur gauche (QAG), quartier postérieur droit (QPD) et quartier antérieur droit (QAD).

6.2. Essuyage des trayons :

L'essuyage des trayons par la même lavette de nettoyage après rinçage est une pratique d'essuyage non conseillée. Nous avons utilisé des papiers à usage unique pour l'essuyage des trayons parce qu'ils sont plus hygiéniques et limite la transmission des germes entre les vaches malades et saines et entre les quartiers infectés et sains.

6.3. Elimination des premiers jets et prélèvement du lait :

Nos prélèvements ont été réalisés dans des tubes stériles de 10 ml, suivant la technique décrite par **Diernoffer** citée par (**Dupont, 1980**).

En effet, on commence la désinfection par le quartier le plus éloigné pour aboutir au quartier le plus proche, alors que le prélèvement commence du quartier le plus proche vers le quartier le plus éloigné. Cet ordre évite à l'opérateur de toucher aux quartiers désinfectés.

Après élimination des premiers jets qu'ils ont généralement une charge microbienne importante, même si la vache est saine, qui peut être un des facteurs de contamination du lait de mélange. Donc, il est indispensable de les écarter avant la traite. Cette pratique facilite la détection des cas d'infection mammaire et par conséquence l'écartement du lait des vaches mammites, car ce lait peut être l'origine d'une élévation du taux cellulaire dans le lait de mélange (**Fourichon et al., 1998**).

Chapitre II : Étude expérimentale

On ouvre le tube en tenant le bouchon dans la même main, on prélève quelques millilitres de lait puis on referme le tube stérile, puis on applique la solution désinfectante à base d'iode (iododad).

6.4. Conservation du tube et transport :

Tous les échantillons sont numérotés, placés sous froid dans une glacière contenant des Cryo-conservateurs et sont acheminés au laboratoire de bactériologie.

7. Analyses microbiologiques

Les analyses bactériologiques ont été réalisées au sein du laboratoire de bactériologie de L'ITELV Baba Ali. Elles ont été effectuées selon les méthodes classiques d'isolement des bactéries les plus fréquentes dans le lait de vache (**Ferney et al., 1966**).

➤ L'enrichissement :

Utiliser le bouillon (BHIB) Brain-Heart Infusion Broth qui est un milieu nutritif tamponné, est utilisé pour la culture d'une très grande variété de microorganismes aérobies ou anaérobies, incluant levures et moisissures. On prend à l'aide d'une seringue à usage unique 1ml de lait cru qu'on met dans 1ml de bouillon BHIB, puis les tubes sont incubés à 37°C pendant 24h. **Figure 2.**



Figure02 : Enrichissement des prélèvements de lait sur BHIB

➤ Ensemencement

Les échantillons de lait sont ensemencés soit sur gélose Baird Parker solide ou bien le milieu Chapman, à raison de 0.01 ml de suspension bactérienne prélevée des tubes préalablement enrichis sur BHIB.

L'incubation dure 24 heures à 37° C, on peut rajouter 24 heures supplémentaires si nécessaire. Les colonies considérées comme pathogènes sont repiquées sur gélose nutritive afin d'obtenir une culture pure.

➤ Identification des Staphylocoques

• Test de la coagulase :

C'est une enzyme libérée dans le milieu par *Staphylococcus aureus*. Sa mise en évidence permet seule, d'affirmer la présence de *Staphylococcus aureus*. Cette enzyme est capable de coaguler le plasma de lapin. **Figure 3.**

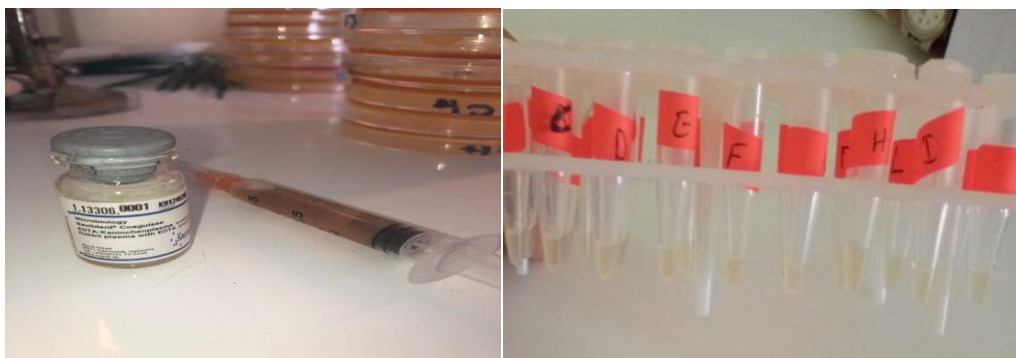


Figure 03 : Plasma de lapin pour la réalisation de test coagulase

• Test de la désoxyribonucléase :

Certaines bactéries sont capables de dégrader l'acide désoxyribonucléique inclus dans le milieu de culture grâce à la désoxyribonucléase (DNase), sur cultures fraîches.

Ensemencer les cultures fraîches des souches de *Staphylococcus* à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée dans la gélose à ADN par stries, puis incuber à l'étuve à 37°C pendant 24h.

La révélation de l'activité se fait en vaporisant à la surface de la gélose une solution d'acide chlorhydrique (HCl) puis nous avons attendu 5 à 10 minutes. Après avoir éliminé l'excès d'HCl. La lecture a été faite sur un fond noir. L'apparition d'une zone claire autour de la strie indique la présence d'une DNase. Figure 4.



Figure 04 : Test DNAase

Chapitre II : Étude expérimentale

- **Le kit PASTOREXTM STAPH-PLUS de BIORAD :**

Il s'agit d'un test d'agglutination au latex pour l'identification de *Staphylococcus aureus*. Il permet en effet la recherche simultanée du facteur d'affinité pour la fibrine encore appelé coagulase liée (ou clumping factor), de la protéine a qui possède une affinité pour le fragment cristallisable (Fc) des immunoglobulines gamma (Ig-G) et enfin la recherche des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.

Le kit renferme un flacon de 1ml de latex rouge sensibilisé par du fibrinogène, des Ig-G et des anticorps monoclonaux anti-polysaccharides capsulaires de *S. aureus*, des cartes d'agglutination, des bâtonnets et enfin un flacon de 1ml de réactif témoin négatif de latex rouge sensibilisé par une solution d'albumine bovine.

Les isolats de staphylocoques sont mélangés avec le réactif au latex sur une carte d'agglutination. Après avoir bien mélangé, la carte est examinée à l'oeil nu : la formation d'agglutinats indique la présence de *Staphylococcus aureus*. **Figure 5. Annexe n°1.**



Figure05 : Test PASTOREX

- **La galerie API *Staphylococcus aureus* :**

Des galeries miniaturisées d'orientation et d'identification biochimique API (Bio-Mérieux) ont été utilisées pour préciser l'identification des staphylocoques **Figure 6. Annexe n°4.**

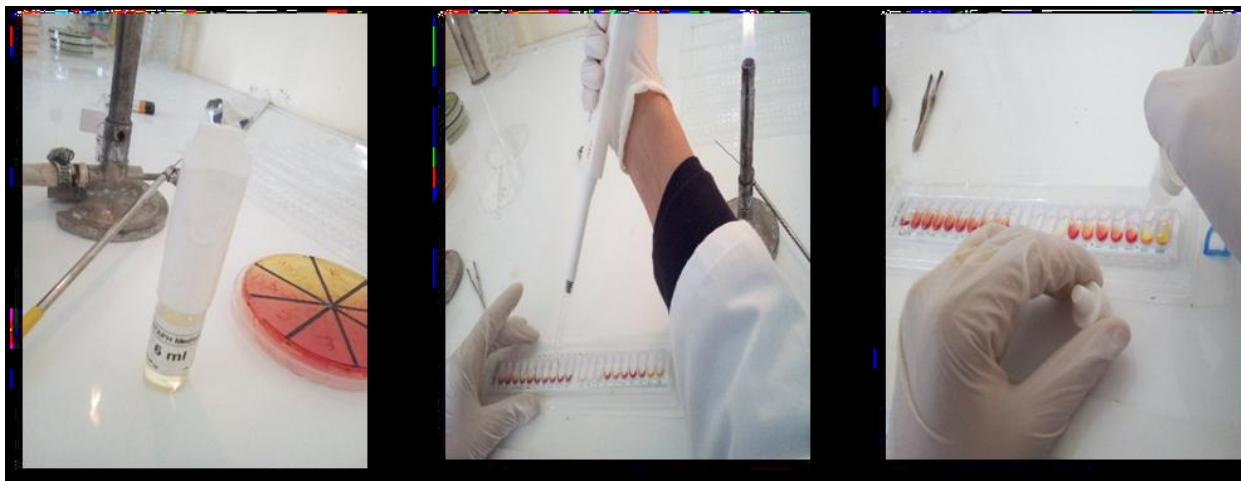


Figure 06 : Réalisation de la galerie API Staph

8. Test d'antibiogramme des souches de *S.aureus* :

La sensibilité des souches est évaluée par la méthode d'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton (MH) selon les recommandations du Comité Française de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie (CA-SFM) (Jehl *et al.*, 2000) **annexe n° 3.**

Nous avons préparé une suspension bactérienne, à partir des colonies bien isolées et parfaitement identiques sur Chapman, on décharge la pipette pasteur dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile, et bien homogénéiser la suspension bactérienne, jusqu'à opacité égale à 0,5 unité de McFarlan. La suspension peut être ajustée en ajoutant, soit de la culture si elle est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile si elle est trop forte. La suspension doit être ensemencée dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

Le milieu Mueller-Hinton et fondu et refroidie à 45°C coulé en boîte de Pétri à une épaisseur de 4 mm pour la solidification.

Pour l'ensemencement tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube sans oublier de le faire pivoter.

Afin de le décharger au maximum puis frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées, répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois en tournant l'écouvillon en lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Afin d'éviter le chevauchement des zones d'inhibition nous avons respecté une distance 15 mm entre le bord de la boîte et les disques périphériques puis une distance de 30mm entre deux disques. Il est important de faire une pré diffusion des antibiotiques de 15 à 30min à température ambiante avant de faire l'incubation dans l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 h.

Chapitre II : Étude expérimentale

Après l'incubation, il apparaît des zones claires autour des disques avec des diamètres variables, ce sont des zones d'inhibition ou de sensibilité. À l'aide d'une règle graduée, mesurer le diamètre des zones d'inhibition. L'interprétation est faite selon le ministère de santé algérienne (standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale, médecine humaine et vétérinaire). Les différents résultats ont été classés en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistant (R).

- ✓ Les souches catégorisées S sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandée.
- ✓ Les souches catégorisées R sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.
- ✓ Les souches catégorisées I sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible. Ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus *in vitro* ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique *in vivo*.

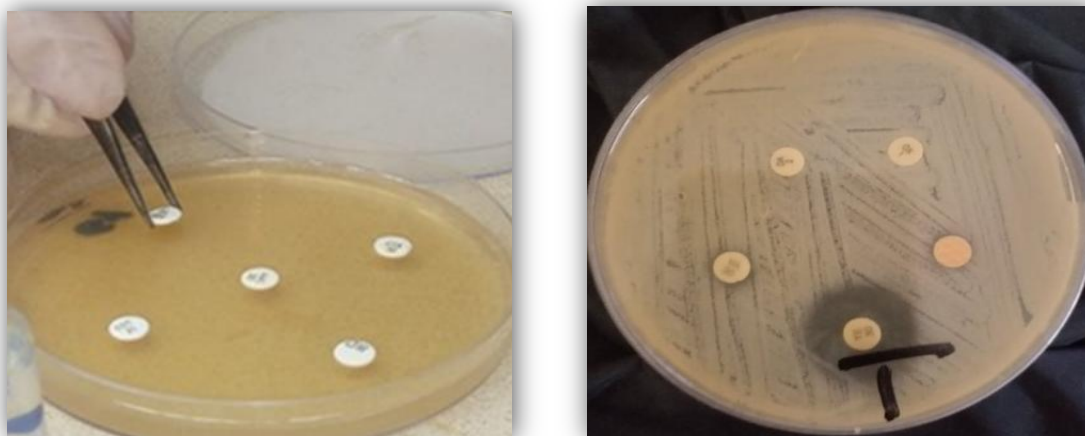


Figure 07 : Réalisation de l'antibiogramme

9. Analyse statistique :

L'étude présentée est descriptive. Les prévalences calculées ont été estimées à 95% d'intervalle de confiance. Les différences statistiques dans les proportions ont été comparées en utilisant le test d'homogénéité de proportion du Chi carré

Les différences observées ont été considérées comme significatives quand la valeur de P était inférieure à 0,05. Les analyses statistiques ont été menées en utilisant Excel.

Chapitre III

Résultat et discussion

1. Résultats :

1.1. Résultats Tests de CMT :

Pour nos résultats de CMT, sur un total de 30 vaches examinées ; 83% (25 vaches) présentent des CMT positifs, 17% (5vaches) révèlent des CMT négatifs, **figure 8**.

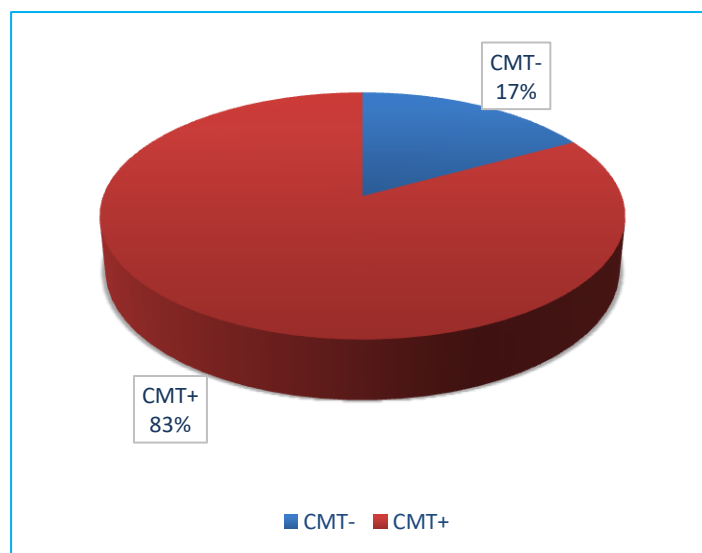


Figure 08. Résultats du CMT des vaches examinées durant notre étude.

Pour notre étude comparative entre nos résultats avec ceux trouvés l'année d'avant réalisés, sur un total de 34 vaches ; 76% (26 vaches) présentent des CMT positifs, 24% (8 vaches) révèlent des CMT négatifs, **figure 9**.

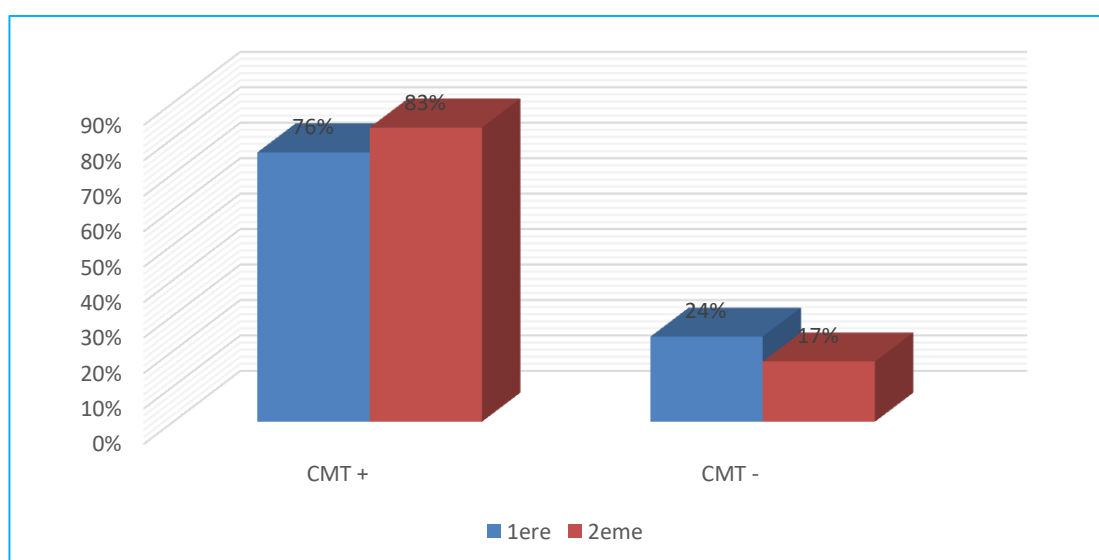


Figure 09. Résultat comparatif du CMT des vaches examinées durant les deux études.

Tableau 12 : Comparaison de résultat de CMT des deux études.

CMT +	Nombre	Pourcentage	IC
1ère étude	26(n=34)	76%	[70%-97%]
Notre étude	25(n=30)	83%	[62%-90%]

(NS : Non significatif ($p>0.005$)).

1.2. Résultats bactériologiques :

1.2.1. Résultat de la culture des staphylocoques :

Durant notre étude, nous avons estimés la prévalence des staphylocoques de 83% trouvés dans le lait issu des vaches mammitesuses après confirmation par le test CMT et des vaches non mammitesuses qui on le teste CMT négative, **figure 10**

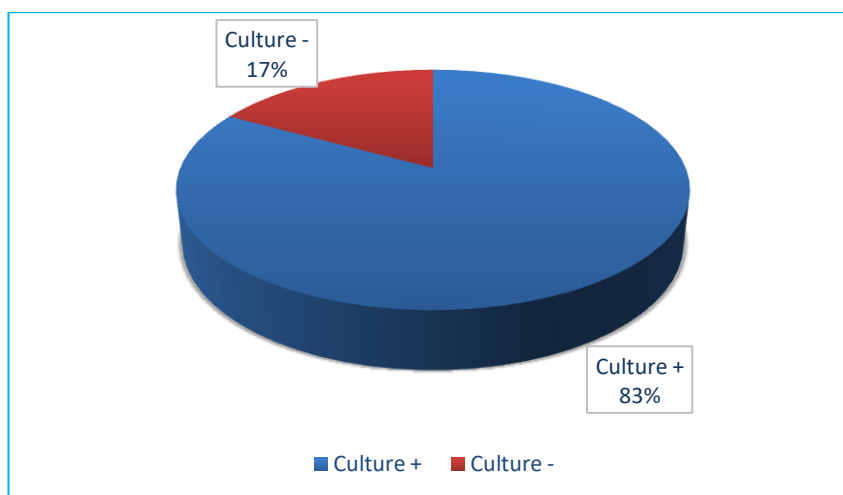


Figure 10. Prévalence des cultures de staphylocoque.

Suivant la figure 11 et le tableau 13, qui comparent nos résultats avec ceux de l'année passée respectivement, révèlent que sur un total de 34 vaches ; 76% (26 vaches) présentent des cultures positives de staphylocoque, 24% (8 vaches) révèlent des cultures négatives, et sur un total de 30 vaches 83%(25vaches) présentent des cultures de staphylocoque et 17% (5 vaches) culture négative.

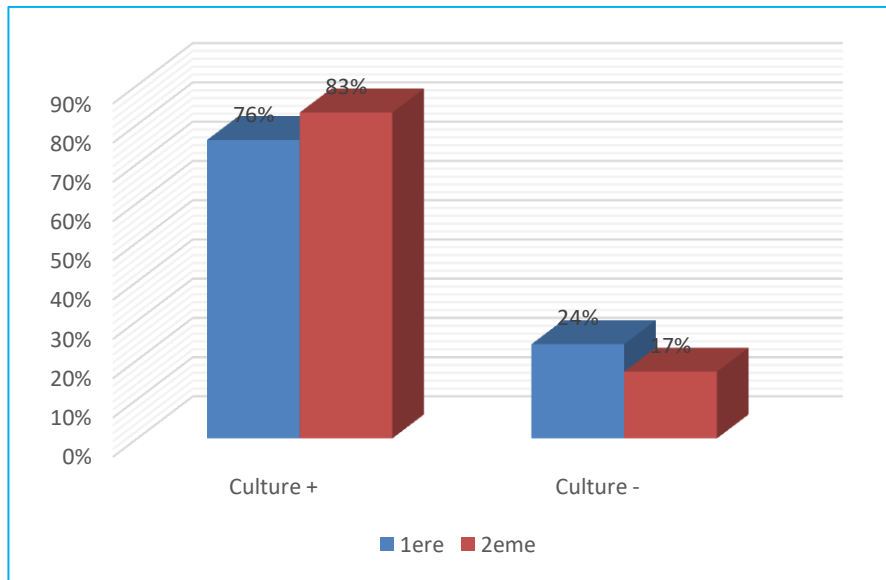


Figure11. Comparaison de la prévalence de staphylocoque des deux études

Tableau 13. Comparaison de la prévalence de staphylocoque des deux études.

Prévalence de staphylocoque	Nombre	Pourcentage	IC
1ère étude	26(n+34)	76%	[62%-90%]
Notre étude	25(n=30)	83%	[69%-96%]

(NS : Non significatif ($p > 0.005$)).

1.2.2. Résultats d'identification Biochimiques :

Nous avons procédé à l'identification de ces germes en suite comparer les résultats avec l'étude précédente.

➤ Test de Coagulase :

Le test coagulase est réalisé pour toutes souches purifiées se staphylocoque pendant les deux études , les résultats obtenus pendant la première étude montrent que le taux des staphylocoques à coagulase négative est de 50% ce qui fait 13 échantillons négatifs tandis que les 13 échantillons restant étaient positifs 50% , quant à nos résultats montrent que le taux des staphylocoques à coagulase positive est de 92% ce qui fait 23 échantillons positifs tandis que les 2 échantillons restant étaient négatifs 8% , les resultats sont présentés dans la figure 12,13 et dans le tableau 14.

Chapitre III : Résultat et discussion

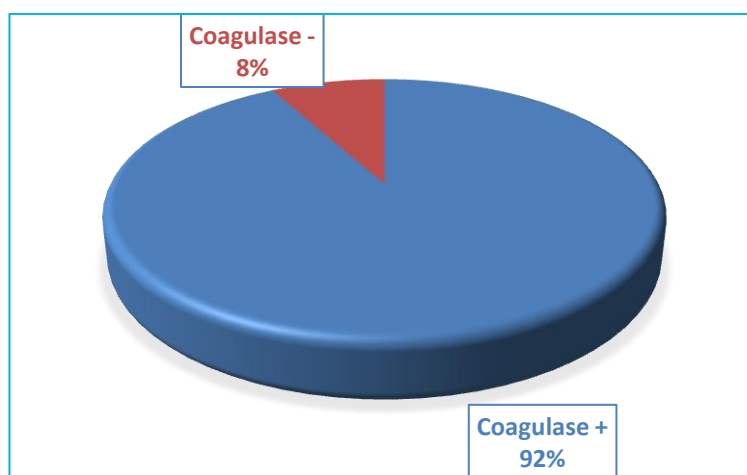


Figure 12. Résultats de test de coagulase.

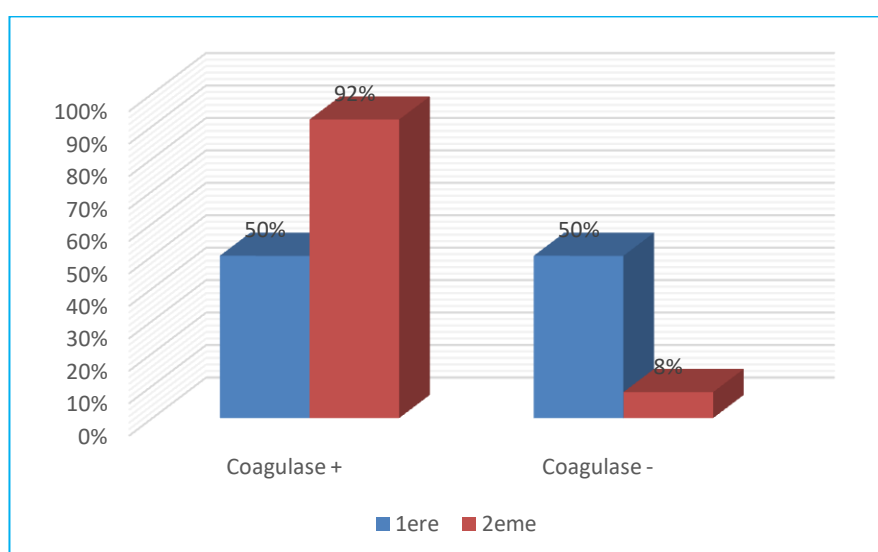


Figure 13. Comparaison de la prévalence de test de coagulase des deux études

Tableau 14. Comparaison de la prévalence de staphylocoque Coagulase + des deux études.

Coagulase +	Nombre	Pourcentage	IC
1ère étude	13(n=26)	50%	[21%-54%]
Notre étude	23(n=25)	92%	[61%-91%]

(S : significatif ($p < 0.05$))

➤ La galerie API Staph :

Dans cette partie les prévalences globales des Staphylocoques relevées dans l'ensemble des échantillons réalisés seront présentés dans la figure 15.

Parmi les 25 isolats de staphylocoque, nous en avons trouvé 12 qui sont des *Staphylococcus aureus* 48%, 8% sont des *Staphylococcus epidermis* et 44% des isolats à coagulase positive non identifiés. En comparant avec la répartition des isolats de staphylocoque de l'autre étude nous

Chapitre III : Résultat et discussion

trouvons 50% de *S. aureus* soit 26 isolats et 12 souches sont des Staphylocoques à coagulase négative SCN (50%). Parmi les Staphylocoques à coagulase négative, on obtient 1 souches qui sont des *Staphylococcus homnis* (4%), 7 souches sont des *staphylococcus lugdensis* (27%) et 5 souches sont des *Staphylococcus epidermis* (19%). Les résultats sont présentés dans la **figure14**.

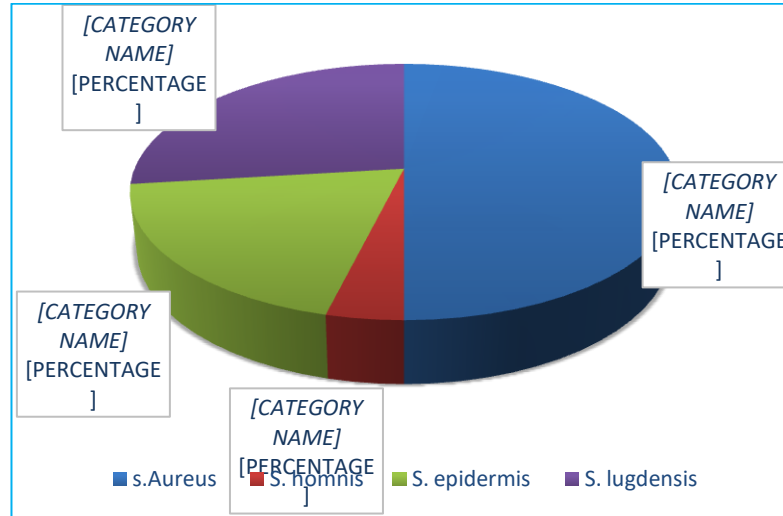


Figure14. Prévalence des *staphylococcus aureus* durant la première étude

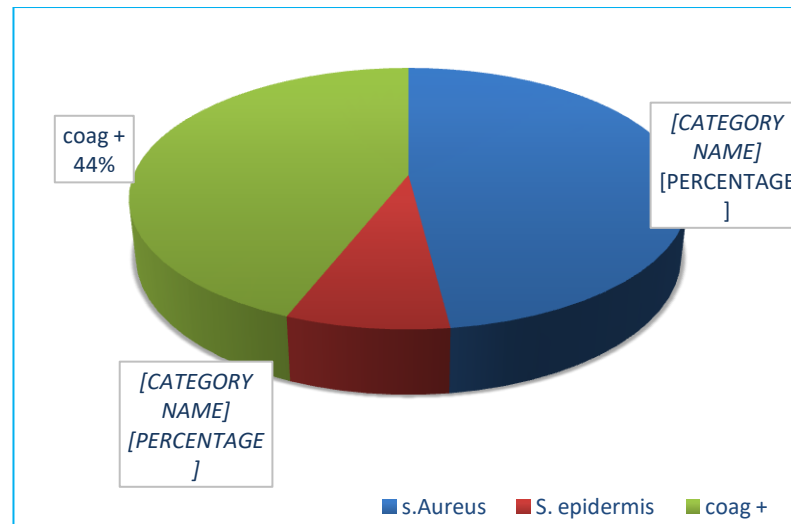


Figure15. Prévalence des *staphylococcus aureus* durant la deuxième étude

Le tableau 15 montre la comparaison entre les deux études en ce qui concerne la prévalence de *S. aureus*

Tableau 15 : Comparaison de la prévalence de *S. aureus* des deux études

<i>S.aureus</i>	Nombre	Pourcentage	IC
1ère étude	13(n=26)	50%	[21%-54%]
Notre étude	12(n=25)	48%	[22%-57%]

(NS : Non significatif ($p > 0.005$)).

1.3. Antibiogramme :

Le dernier volet de ce travail s'est consacré à l'étude de l'antibiogramme des germes déterminés et identifiés durant deux études préalables. Soit pour la première ou la deuxième étude les souches identifiées comme étant des *S. aureus* sont testées pour étudier leur profil de résistance vis-à-vis 11 antibiotiques, la répartition des résultats de l'antibiogramme des deux études sont présentées dans le tableau 16 et la figure 16 .

La résistance à la pénicilline G touche 15% pour la première étude et 58% pour la deuxième étude. Aucune résistance vis-à-vis de la Vancomycine, la Gentamycine, le Chloramphénicol et la Clindamycine dans la première étude par contre pour la deuxième étude nous avons remarqué une résistance respectivement 25%,16%,8%,25%.

Aucune résistance contre la Tétracycline durant les deux études.

Une résistance très remarquable à l'oxacilline pour les deux études respectivement 85% et 84%

Les souches de *Staphylococcus aureus* isolées, révèlent une résistance à la Néomycine, Enrofloxacin, Céfoxitine et l'Érythromycine respectivement (31%,26%), (47%,17%), (38%,67%) et (70%,76%) dans les deux études.

Tableau 16. Résultats de l'antibiogramme de *Staphylococcus aureus* des deux études.

		N ₁ =13 N ₂ = 12					
		Sensible		Résistante		Intermédiaire	
Antibiotique	Abréviation	%		%		%	
		1 ^{ère}	2 ^{ème}	1 ^{ère}	2 ^{ème}	1 ^{ère}	2 ^{ème}
Pénicilline	P	77%	42%	15%	58%	8%	0%
Oxacilline	OX	15%	16%	85%	84%	0%	0%
Gentamicine	CN	100%	84%	0%	16%	0%	0%
Vancomycine	V	8%	42%	0%	25%	82%	33%
Clindamycine	C	85%	50%	0%	25%	15%	25%

Chapitre III : Résultat et discussion

Triméthoprime+Sulfaméthoxazole	STX	85%	83%	8%	7%	7%	10%
Erythromycine	E	15%	7%	70%	76%	15%	17%
Tétracycline	ET	82%	92%	0%	0%	8%	8%
Cefoxitine	Fox	62%	33%	38%	67%	0%	0%
Kanamycine	K	54%	66%	31%	26%	15%	8%
Chloramphénicole	C	100%	84%	0%	8%	0%	8%
Enrofloxacin	Enr	38%	58%	47%	17%	15%	25%

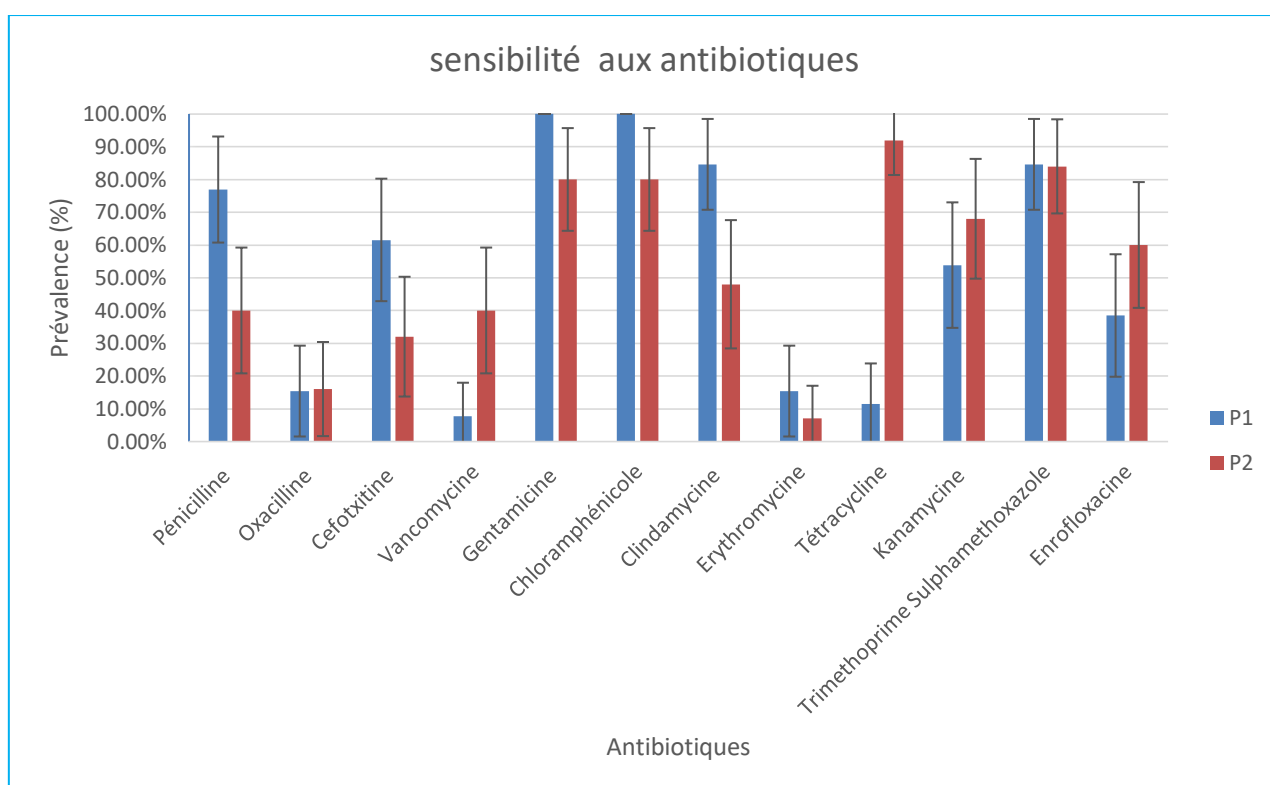


Figure 16. Répartition des résultats d'antibiogramme.

2. Discussion :

2.1. Prévalence de mammites subcliniques :

Dans notre étude comparative de nos résultats avec ceux de l'année passée, nous a révélé un pourcentage élevé des vaches présentant un CMT positif pour les deux études soit et 76% [62%-90%] et 83% [70%-97%] respectivement bien qu'une légère supériorité de fréquence ait été enregistrée, cela ne montre pas de différence significative entre les deux.

Chapitre III : Résultat et discussion

Ces données sont en accord avec celles rapportées dans par **Houssa, 2006** dans les fermes de Niacoulrab et de Wayembam 68,53%. Cependant elle est élevée par rapport aux résultats obtenus par (**Konté, 2003**) sur les métis au Sénégal et par (**Issa Ibrahim, 2005**) sur les races locales au Niger (respectivement 46,2% et 44%).

Cette ressemblance de résultat entre les deux études peut être expliquée par le fait que l'étude a été réalisée dans la même ferme donc même troupeau et même conditions d'élevage et pendant la même période l'hiver 2018-2019.

2.2. Analyses bactériologiques :

Les deux études montre qu'il y a un pourcentage très important dépasse les 50% des échantillons contaminés. Ces résultats sont plus élevés par rapport à ceux rapportées dans d'autres études et qui oscillent entre 15 et 30% des échantillons de mammites cliniques, (1991), 21,9% pour (**Messadiet al., 1990**), 22,9% pour (**Schukkenet al., 1989a**), 23,2% pour (**Bezek, 1998**), 27,4% pour (**Miltenburget al., 1996**), et 31,4% pour (**Fabre et al., 1997a**), (**David et al., 1988**) (13,1%), 14% pour (**Milneet al., 2002**), 15,1% pour (**Bradley et al., 2001**), 15,3% pour (**Wilesmithet al., 1986**), 17,7% pour (**Sargeantet al., 1998**), 18% En revanche elles sont proches par rapport à celle rapportée par (**Koutchoukali, 1980**) 48,5%.

Cette présence de culture bactérienne dans le lait est peut-être dû aux mammites, cette variation de résultats est liée principalement à la différente répartition des mammites dans les élevages laitiers, elle peut être liés aussi à la résistance de certaines espèces bactériennes aux détergents utilisés.

2.2.1. Prévalence des staphylocoques :

Dans les deux études, les staphylocoques ont été isolé avec une fréquence de 76% [62-90%] et 83% [69-96%], respectivement. Ce qui confirme que les Staphylocoques sont l'agent pathogène principal de la mammite bovine dans les différents pays (**Wang et al., 2015**). Ces résultats sont très supérieurs à ceux trouvés par plusieurs auteurs, (**Kudinha et al., 2002 ; Issa Ibrahim, 2005**) qui ont obtenu les fréquences respectives de 34,2% et 36,63%. En plus nos résultats dépassent fortement ceux trouvés par (**Boutet et al., 2005**) en France qui étaient de 15,8% et 16%.

Dans notre étude comparative, la prévalence des Staphylocoques n'est pas significativement différente ($p > 0.05$) entre les prélèvements. Nous pouvons expliquer la similarité des prévalences de staphylocoques par la persistance des mêmes conditions d'hygiène pendant la traite d'un prélèvement à l'autre.

Chapitre III : Résultat et discussion

Staphylocoque *est* une bactérie très robuste dans l'environnement, pouvant survivre dans des conditions extrêmes de température et d'humidité. Elle est décrite comme une cause majeure des infections intra-mammaires chez les vaches laitières avec de fortes prévalences dans les exploitations de moins de trente vaches (**Kalmus et al., 2011**).

2.2.2. Prévalence des SCN :

Parmi les pathogènes mineurs, les plus représentés sont les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) dont leur prévalence dans la première étude est de 50% parmi les 26 souches de staphylocoques. Cependant ces résultats sont très supérieurs à celle qui a été rapportées par la deuxième étude 8% cette fréquence est similaire à celle enregistrée par (**Bouchot et al., 1985**) qui révèlent une fréquence de 12,7%

La fréquence des Staphylocoques à coagulase positive pour les deux études respectivement 50% [IC 95% :21% - 54%], 92% avec IC [61% - 91%] les bornes inférieures des deux IC ne sont pas proche ce qui signifie l'absence de chevauchement donc il existe une différence significative

Nous pouvons expliquer cette différence par la présence et la persistance des souches de staphylocoques plus virulentes et cela peut être lié à l'utilisation anarchique des agents antimicrobiens qui exercent une pression de sélection qui élimine les bactéries sensibles, et favorise la croissance des lignées résistantes

2.2.3. Prévalence des *Staphylococcus aureus* :

Dans l'ensemble, *S. aureus* est souvent considéré comme l'un des agents étiologiques les plus couramment incriminé en mammite clinique et subclinique chez les vaches laitières.

Pour notre étude comparative on remarque l'absence de différence significative ($p > 0.05$) dont 50% [21% - 54%], 48% [22% - 57%] respectivement.

Plusieurs études provinciales algériennes ont montré une forte fréquence d'implication de *S. aureus* dans les mammites bovines. A Oran, *S. aureus* est décrit comme étant responsable de 38,9% des cas mammites cliniques et subcliniques chez les vaches (**Benhamed et Kihal, 2013**). Par ailleurs, des taux d'implication de *S. aureus* de 30,3% et 40% dans les cas de mammites subcliniques ont été enregistrés respectivement dans les régions Est et centre de l'Algérie (**Boufaida-Asnoune et al., 2012 ; Saidi et al., 2013**).

La prévalence relativement élevée des mammites à *S. aureus* dans le troupeau bovin laitier pourrait être liée aussi bien au défaut de sensibilisation sur l'importance des mammites subcliniques, qu'à l'absence d'une législation stricte imposant un contrôle régulier de la qualité du lait. En plus des règles d'hygiène qui sont défectueuses, aucun contrôle sanitaire de routine ne se fait sur les glandes mammaires des vaches appartenant aux troupeaux étudiés, soit par un

Chapitre III : Résultat et discussion

dépistage mensuel au CMT, par le comptage des cellules somatiques des laits de mélange, ni par des mesures quotidiennes de la conductivité électrique du lait.

Les mauvaises conditions d'hygiène lors de la traite et le manque d'entretien accordé aux trayeurs (mains sales, eau de traite de mauvaise qualité, ...etc.) et aux matériels impliqués dans la production et le stockage du lait sont certes à l'origine de la mauvaise qualité hygiénique du lait produit. En effet, la traite s'effectue dans des conditions sales et le recours à l'utilisation des produits nettoyants pour la préparation de la mamelle et pour le nettoyage du matériel est très insuffisant. La majorité des trayeurs ont eu recours au rinçage de la machine avec de l'eau seulement et qui n'ont pas eu recours au lavage des mains.

Les erreurs dans les gestes d'hygiène favorisent le risque de transmission des germes pathogènes et donc l'apparition des mammites par la suite.

3.L'antibiorésistance :

La méthode de diffusion en milieu gélosé de Mueller Hinton a été utilisée en routine pour la sélection de souches sensibles et résistantes aux antibiotiques testés.

Les souches de *S. aureus* sont connues pour être fréquemment résistantes aux antimicrobiens à cause de leur capacité à produire une barrière exo polysaccharide d'un côté et de l'autre, leur localisation au sein des micro-abcès, qui limitent l'action des antibiotiques (**Gundogun et al., 2006**).

Les deux études ont révélé l'existence de souches sensibles et d'autres résistantes aux différents antibiotiques testés, les taux de résistance observés variaient de 0 à 100%.

La sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. aureus* isolés a été analysée :

Le plus haut taux de résistance a été observé pour l'Oxacilline (58%) (84%), et Erythromycine (70%) (76%) respectivement.

La Tétracycline a montré une sensibilité très importante (82%), (92%) et la STX (85%), (83%) respectivement. Cette molécule selon BEN MAHDI et OUSLIMANI (2009), occupe une place prépondérante dans la thérapeutique elle est largement utilisée sous forme de préparation intra-mammaires pour prévenir contre les mammites bovines.

La résistance des souches isolées vis-à-vis à l'Oxacilline (méthicilline) est considérée comme élevée par rapports aux données enregistrées par (**Hamiroune, 2016**) avec une résistance de (10%) et (**Haran et al., 2012**) avec une résistance de (7.92%). Cette résistance est due probablement à la production de β -lactamase, enzyme inactivant les antibiotiques appartenant à la famille de β - lactamine.

Chapitre III : Résultat et discussion

Le *S. aureus* est considérée parmi les bactéries Gram positif qui offre le plus de résistance à l'antibiothérapie, 60 % de souches sont productrices de β -lactamase (**Perrin-Coullioud et al., 1991**).

Une résistance presque similaire pour la Kanamycine soit 31% pour la première étude et 26% pour la deuxième étude.

Une augmentation de résistance très remarquable pendant la deuxième étude pour la Céfoxitine soit 67% au lieu de 38% suivi par la pénicilline (58%) au lieu de (15%).

Selon (**GUERIN-FAUBLEE et BRUN ; 1999**), certaines souches de *S. aureus* synthétisent des Pénicillinases, enzymes limitant l'action de certains antibiotiques.

Des résistances qui ont été nulle pour la Gentamycine le chloramphénicol et la clindamycine 0% sont désormais 16%, 8%, 25% respectivement.

Quant à la Vancomycine 25 % au lieu de 0% mais il y a une proportion très importante pour les intermédiaires de la première étude 82% ce qui explique l'évolution de la résistance vers le pire.

La résistance à la pénicilline G dans d'autre étude enregistrée par (**Bouaziz, 2005**) à l'est Algérien et par (**Ben Hassenet al., 2003**) en Tunisie soit 89%.

Une résistance remarquable est enregistrée vis-à-vis des antibiotiques suivants Vancomycine et Erythromycine 25%, ces valeurs dépassent celles trouvées par (**Hamiroune, 2016**), qui n'a révélé aucune résistance contre ces deux antibiotiques.

En ce qui concerne la tétracycline, nous avons constaté une absence de résistance 0% comparé aux résultats de (**Moroni et al., 2006**), un taux de résistance marquée de l'ordre de 58,5%.

Les souches de *S. aureus* ont une faible résistante vis-à-vis Gentamicine Clindamycine et l'association Triméthoprime+Sulfaméthoxazole ce taux semble inférieur à celui rapporté par (**Hamiroune, 2016**), qui a enregistré un taux de 18,9%. Par contre, (**ben Hassen, 2003**) a n'a rapporté aucune résistance.

En revanche, la résistance de *S. aureus* aux antibiotiques est très fréquente en médecine humaine surtout en milieu hospitalier, cependant elle est nettement plus faible en médecine vétérinaire (**Guerin-Fauble et al., 1999**).

Ce travail montre l'ampleur des dégâts induits par l'utilisation anarchique et démesurée de ces médicaments et incite à l'application de mesures sérieuses afin de contrecarrer ce problème qui ne cesse de croître

Chapitre III : Résultat et discussion

En 60 ans d'utilisation des antibiotiques, de façon non réfléchie, surtout de ceux à large spectre, l'écologie microbienne s'est profondément modifiée au profit des souches bactériennes nouvelles, le plus souvent multi résistantes, porteuses de plasmide de résistance.

Conclusion et prescriptive

Conclusion et prescriptive :

Les mammites demeurent la pathologie la plus couteuse en production laitière cette pathologie multifactorielle représente un trouble majeur chez les vaches laitières influençant la qualité et la quantité du lait et le bien-être de l'animal

Le présent travail comparatif a permis d'évaluer l'évolution de la prévalence des mammites staphylococciques dans l'élevage bovin laitier d'une part, et d'autre part l'émergence de résistance aux antibiotiques qui est considéré comme étant une préoccupation majeure de la santé publique à travers le monde.

De même, la présence de ces agents pathogènes chez les animaux de rente ou dans le lait cru soulève la question de la transmissibilité potentielle de clones spécifiques hautement résistants ou de déterminants de la résistance antimicrobienne, ainsi que les voies possibles de transmission de l'animal à l'homme ou vice-versa.

A la lumière de nos résultats, la comparaison entre les deux études s'avère que les mammites staphylococciques demeurent l'une des pathologies dominantes qui sévissent dans les élevages bovins laitier des prévalences de 76% [IC 95% [62%-90%], 83 % [69%-96%] respectivement. Or, l'analyse bactériologique des échantillons de lait mammitieux montre, que presque la moitié des vaches sont atteintes par *S. aureus*.

Notre étude nousa permet également, de mettre en évidence l'impact engendré par l'utilisation abusive et anarchique d'antibiotiques en médecine vétérinaire. Ces mêmes résultats devraient aider à dresser un état des lieux concernant le profil de résistance des *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des différentes molécules testées, et donc orienter les cliniciens dans leurs futures prescriptions. Ils devraient également permettre une prise de conscience sur la nécessité d'adopter une politique organisée avec un emploi ciblé et raisonnable des antibiotiques.

Dans le contexte, le profil comparatif de sensibilité aux antibiotiques étudié a révélé une augmentation de résistance remarquable vis-à-vis de la pénicilline G avec un taux de 58% au lieu de 15% ; ceci nous laisse prévoir de nombreux échecs thérapeutiques en médecine vétérinaire.

Nous avons constaté notamment une différence de résistance notable due aux *S. aureus* contre quelques antibiotiques à savoir la Vancomycine, la Gentamycine, le Chloramphénicol et la Clindamycine. Quant à l'Oxacilline et Erythromycine nous avons enregistré, un fort pourcentage alarmant de résistance durant les deux études qui exige une attitude très sérieuse.

Il est primordial de maîtriser la diffusion des souches multi-résistantes et ce, via le contrôle régulier des profils de résistance bactérienne et la révision des paramètres de prescription en clinique vétérinaire. Enfin, notre travail de recherche doit être complété en élargissant l'étude

Conclusion et prescriptive

sur un plus grand nombre de souches et d'espèce animale. Il est également utile d'étudier les mécanismes à l'origine de la résistance aux antibiotique et les mesures à prendre afin d'éviter l'émergence de souches multi résistantes.

Références bibliographiques

Accarias.S., (2014). Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*. Thèse doctorat de l'université de Toulouse, France.

Aissani. D M, Ait Idir. T., (2018). Prévalence et résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées d'animaux de la ferme. Mémoire de Fin de Cycle. Université A. MIRA – Béjaia, Algérie.

Aggad. H, Mahzouz. F, Ahmedmmar. Y,Kihal.M., (2009). Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. Rev. Méd. vét.169: 590-595.

Akers. RM., (2002) Lactation and the mammary gland. 1st ed. Iowa State University Press. Ames, Iowa.

Amellal. R.,(1995). La filière lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et réalité de la dépendance.Options Méditerr. Sér. B : °14.

Anonyme.,(1999). Relevé épidémiologique mensuel.Institut national de la santé publique. Volume X. Num2. P 12.

Avrain. L, Humbert. F, L'Hopsitalier. R, Sanders. P, Vernozy- Rozand. C, Kempf. I., (2003). Antimicrobial resistance in Campylobacter from broilers: Association with production type and antimicrobial use. Vet Microbiol.96 : 267-76.

Badinand. F.,(1994).Maitrise du taux cellulaire du lait.Recueil de médecine vétérinaire numéro spécial : Qualité de lait. 491: 640.

Bakken. G.,(1982). The relationship between environmental conditions and bovine udder diseases in norwegian dairy herds.ada agri. Scand 32: 23-31.

Bareille. N, Djabri. B, Beaudeau. F, Seegers. H.,(2003).Gestion de la Santé Animale, ENVN-INRA.Atlanpole-Chantrerie, BP 40706, 4430 Nantes Cedex 03.

Barone. R., (1990) Anatomie comparé des animaux domestiques Splanchnologie.P 455 :463.

Belkhiri. A., (1993). Contribution à l'étude étiologique des mammites, des qualités des laits et mise en œuvre d'un plan de prophylaxie.Mémoire pour diplôme d'ingénieur en agronomie, université de Blida.

Ben Hassen. S, Messadi. L, Ben Hassen.A., (2003). Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite. Ann. Méd. Vét. 147 : 41-47.

Références bibliographiques

Berg.C., (2001). Infections intra mammaires des vaches laitières en fin de lactation : Nature et sensibilité aux antibiotiques des bactéries pathogènes isolées. Thèse doctorat vétérinaire, ENV Nantes. P101.

Beroual. K., (2003). Caractérisation des germes d'origine bactérienne responsables des mammites bovines dans la région de la Mitidja. Thèse Magister, Université de Blida, Algérie, P 134.

BERTHELOT. X, LEBRET. P, PETIT. C., (1987). Les infections mammaires de la vache laitière. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. P 192.

Berthelot. X, bergonier. D., (2001). Fiche diagnostic bactériologique des mammites : pourquoi comment et qu'en attendre. Bulletin des GTV num 12 (sept/oct 2001) 31 :33.

Billon. P, Menard. J.L, Berny. F, Gaudin. V., (2001). La détection des mammites par mesure de conductivité électrique du lait. bulletin des GTV numéro 12 (sept/nov 2001) 35-39.

Boutet. P., Detilleux. J, Motkin. M, Deliege. M, Piraux. E, Depinois. A, Debliquy. P, Mainil. J, Czeolicki. G, Lekeux. P., (2005). Comparaison du taux cellulaire et de la sensibilité antimicrobienne des germes responsables de mammites subcliniques bovines entre les filières conventionnelles et biologiques. Ann. Méd. vét., 149: 173 :182.

Bradley. A.J., (2003). Bovine mastitis: an evolving disease. The Veterinary Journal, 2003, 164 (2)- 116:128.

Barkema. H.W, Schukken. Y.H, Zadoks.R.N., (2006). Invited review: the role of cow pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. J Dairy Sci, 89 :1877-1895.

Benbouabdellah. S, Ziane. D., (2015). *Staphylococcus aureus* dans le lait cru et les produits laitiers artisanaux. Mémoire de Fin de Cycle. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie.

Ben Hassen. S, Messadi. L, Ben Hassen.A., (2003). Identification de lait de vache atteintes ou non de mammites. Ann.Méd Vét.147, 41-47.

Bergonier. D, Berthelot. X., (2003). New advances in epidemiology and control of ewe mastitis. Livestock Production Science, 79 : 1-16.

Bouaziz. R., (2005). Contribution à l'étude des infections intramammaires des vaches laitières de l'est algérienne. Thèse de doctorat. Université de Mentouri de Constantine, Algérie.

Bouchot. M, Catel. J, Chirol. C., (1985). Diagnostic bactériologique des infections mammaires des bovins. Rec. Méd. Vét., 161 (6-7) : 567 -577.

Références bibliographiques

Boutet. P, Detilleux. J, Motkin. M., (2005). Comparaison du taux cellulaire et de la sensibilité antimicrobienne des germes responsables de mammite subclinique bovine entre les filières conventionnelle et biologique. Ann. Méd. Vét., 149 : 173-182.

Chaalal. W., (2013). Occurrence et profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires. Mémoire de magistère. Université d'Es-Senia Oran, Algérie.

Cofrac/Cneva., (1996). Isolement et identification des principaux germes de mammites des ruminants. Pr 116/00 BA 140/00.

Cucarella. C, Tormo. M.A, Ubeda. C, Trotonda.M. P, Monzon. M, Peris .C, Amorena B, Lasa. I & J.R, Penades., (2004). Role of biofilm-associated protein bap in the pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus*. Infect Immun, 72 :2177-2185.

Denis.F., (2011). Bactériologie médicale : technique usuelle.Elsevier Masson. P 640.

Djebib. S, Djebib. A., (2015). Etude de la sensibilité et la résistance des souches de *Staphylocoque aureus* aux antibiotiques.Thèse de doctorat. Ecole nationale supérieure vétérinaire Alger, Algérie.

Dupont. J. P. L., (1980). L'infection mammaire inapparente : agents microbiens en cause et antibiogramme.Thèse de doctorat. Méd. Vét : Alfort.

Durel L, FaroulT B, Lepoutre D, Brouillet P (.2003). Mammites des bovins (cliniques et subcliniques) : La dépêche : démarches diagnostiques et thérapeutiques (Supplément technique n° 87).

Dumitrescu. O, Dauwalder. O, Boisset. S, Reverdy. M. E, Tristan. A, Vandenesch. F., (2010). Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. Medecine / sciences 2010 ;26 : 943-9.

El bably.M, Emeash.H, Asmaa. N., (2013). Risk factors associated with mastitis occurrence in dairy herds in Benisuef, Egypt.World's Veterinary Journal, 3(1): 5-10.

Ferens. WA & GA Bohach., (2000). Persistence of *Staphylococcus aureus* on mucosal membranes: superantigènes and internalization by host cells. J Lab Clin Med, 135 :225-230.

Flandrois.J. P. (1997). Bactériologie médicale. Presse Universitaire de Lyon. P 309.

Franklin D, Lowy M D (1998). *Staphylococcus aureus* Infections.Medical Progress. 339 :520-532.

Garzoni. Ch, Kelley. WL., (2009). *Staphylococcus aureus*: new evidence for intracellular persistence. Trends in Microbiol, 17(2):59-65.

Gentilini. E, Denamiel. G, Liorente.P., (2000). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina.J. Dairy Sci., 83, 1224-1227

Références bibliographiques

Guerin –Fauble. V, Brun.Y., (1999). Les résistances aux antibiotiques les staphylocoques d'origine animale.

Gundogan. N, Citak. S, Yucel. N, Devren. A., (2005). A note on the incidence and the antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples. Meat Sci. 69, 807–810.

Hamiroune. M., (2009). Contribution à l'étude de la contamination du lait par les staphylocoques dans certaines fermes de la région d'Alger et son impact sur la santé humaine. Mémoire de magistère. Ecole nationale supérieure vétérinaire –Alger, Algérie.

Hamiroune. H., (2016). Contribution à l'étude de la contamination du lait cru issu de vaches de races locales et améliorées par les *staphylococcus aureus* dans les régions de Jijel et de Blida. Thèse de doctorat en science vétérinaire option Hygiène et sécurité alimentaire à l'ENSV, Algérie.

Hanzen. CH., (1999) « Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière. Aspects individuels et d'élevage » p 163.

Hanzen. CH., (2000) « Propédeutique et pathologie de la reproduction mâle et femelle biotechnologie de la reproduction et pathologie de la glande mammaire » 4^{ém} édition 2000 université de liège.

Hanzen. CH., (2004). Physiologie de la glande mammaire et de trayon de la vache laitière. 1^{er} doctorat chap 07 université de liège

Hanzen. CH., (2005). Approche épidémiologique de la reproduction bovine la gestion de la reproduction un problème individuel ou de troupeau. 2^{ém} doctorat chap 28 ; 24.

Haran. KP., Godden. SM, Boxrud. D, Jawahir. S, Bender. J.B, Sreevatsan. S.,(2012). Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, isolated from bulk tank milk from Minnesota dairy farms. J Clin Microbiol. 50, 688-95.

Hebert. A, Sayasith. K, Sénéchal. S, Dubreuil. P, Lagacé. J., (2000). Demonstration of intracellular *Staphylococcus aureus* in bovine Mastitis alveolar cells and macrophages isolated from naturally infected cow milk. FEMS Microbiol Lett, 193 :57-62.

Houssa. E., (2006). Evaluation de la prévalence et des causes des mammites subcliniques en élevage bovin laitier intensif, dans la zone périurbaine de Dakar (cas des fermes de Wayembam et de Niacoulrab). Thèse de doctorat. Médecine. Vétérinaire, Dakar.

Issa Ibrahim. A., (2005). Etude étiologique des mammites subcliniques dans les élevages bovins laitiers périurbains et urbains de Niamey (Niger). Thèse de doctorat. Médecine. Vétérinaire, Dakar.

Références bibliographiques

- Klastrup.I., Bekken. G., Bramley. J, Bushnell. R., (1987).**Environmental influence on bovin mastitis. Bulltin of the international dairy federation. N 217. P 37.
- Konte M (2003).** Etude de la prévalence des mammites chez les bovines métis et locaux des systèmes de production semi-intensifs de Kaolack et de Fatick (44 – 46) In: Actes de l’atelier de restitution des résultats du projet.
- Labbé j.f, (2003)**« Abord d’un élevage confronté à des mammites »le point vét/num232 vol 34 36-38.
- Lacasse P., Sorry Diara M., Talbot B., Brouillette E., Petit clerc D, (2001)** « Nouvelles approches pour combattre la mammite » symposium sur les bovins laitiers CRAAQ Québec.
- Le Roux Y, 1999**« Les mammites chez la vache laitière. P 51.
- Le Loir. Y.L. et Gautier. M., (2010).** *Staphylococcus aureus*. Monographies de microbiologie.
- Lindsay. J.A, Holden. M.T., (2004).** *Staphylococcus aureus* : superbug, super genome Trends Microbiol 12(8) : p. 378-85.
- Marchal. N, Bourdon. J L, Richard. C L., (2005).** Les milieux de cultures pour l’isolement et l’identification biochimique des bactéries. Edition Dion, Paris.
- Oviedo-Boyso. J, Valdez-Alarcon.J.J, Cajero-Juarez. M, Ochoa-Zarzosa. A, Lopez-Meza. J.E, Bravo-Patino. A, Baizabal-Aguirre.VM., (2007).** Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. J Infect, 54 :399-409.
- Perez. P., (2013).** Typage de *staphylococcus aureus* par MLVa : étude de faisabilité de la détection par HRM.Thèse doctorat, Université de lorraine, France.
- Peton. V Le Loir. Y., (2014).** *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. Infect genetics Evol, 21 :602-615.
- Pilet. C, Bourdon. J.I., (1979).** Bactériologie médical et vétérinaire, systématique bactérienne. 2ème édition. Doin. Paris. ISBN : 2-7040-0362-9.
- Poutrel. B., Vermesse. R, Verneau. D., (1999).** Utilisation du CMT pour le diagnostic des infections mammaire. Maitrise des statuts infectieux de la qualité cellulaire du lait de chèvre par l’utilisation du post-trempage : résultats expérimentaux et données de terrain. Journées National des GTV. INRA session; antibiothérapie 527-528.
- Prescot. S.C, Breed. R.S., (1910).** The determination of number of body cells in milk by a direct method.J. inf. dis., 7, 632-640.
- Prévost. G, Mourey. L, Collin DA, Menestrina.G., (2001).** Staphylococcalpore-forming toxins. Curr Top Microbial Immunol, 257:53-83.

Références bibliographiques

Sears. PM, McCarthy. KK., (2003). Management and treatment of staphylococcal mastitis. *Vet Clin Food Anim*, 19 :171-185.

Serieys. F., (1985). Conditions de logement et infections mammaires. *Rec. Médecine Vétérinaire*.161 (67) : 519-528.

Serieys. F., (1985). Interprétation des concentrations cellulaires de lait individuel de vache pour le diagnostic de l'état d'infection mammaire. *Ann. Rech. Vét.*, 16, (3), 263-269

Serieys. F., (1985). La numération des cellules du lait : interprétation pour le diagnostic et le suivi des infections mammaires. *Recueil de médecine vétérinaire : Les mammites bovines*, 161, 6 :7.

Vandepitte. V, Engaek.K, Piot. P, Heuk. C.C., (1994). Bactériologie Clinique : techniques de base pour le laboratoire. Ed Organisation Mondiale de la Santé. Genève. P 121

Villalobos. H, Rodriguez-Struelens. MJ., (2006). Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implication pour le réanimateur. *Réanimation* 15 :205-2013.

Verdier. I., Gérard. L, Yves. G et François. V., (2015). Cours de Bactériologie Médicale : Staphylococcus. Available : [http : //www. microbesedu.org/étudiant/staph.html](http://www.microbesedu.org/étudiant/staph.html).

Wattiaux. M.A., (1999). Reproduction et sélection génétique chapitre 12 : évaluation de la condition corporelle ». Institut Babcock pour la recherche et le développement international de secteur laitier. University Wisconsin Madison.

Wang. D, Wang.Z,Yan.Z,Wu.J, Ali.T, Li. J, Lv. Y, Han. B., (2015). Bovine mastitis Staphylococcus aureus: Antibiotic susceptibility profile, resistance genes and molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-sensitive strains in China. *Infection, Genetics and Evolution*,31 : 9-16

Zaara. B., (2013). Contribution à l'étude de la résistance des staphylocoques aux antibiotiques courants. Mémoire de Fin de Cycle. Université de Blida 01, Algérie.

Site web :

API Staph web (2017). Système d'identification des staphylocoques, microcoques et apparentés.

Cell image library. Center for research in biological systems: <http://cellimagelibrary.org/images/40593>.

Références bibliographiques

ITELV: www.ITELV.com.

Annexe 1 : Test pastorex *S. aureus*.

Pastorex Staph Plus



Description

Pastorex Staph Plus est un test d'agglutination au latex pour la détection simultanée de l'antigène d'affinité pour le fibrinogène (facteur de coagulation), de la protéine A et des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*. Ce kit comprend le contrôle, des cartes jetables et des bâtonnets. Un pourcentage croissant de *S. aureus* (principalement les souches Methi-R) peut échapper à la détection avec certains tests d'agglutination, car les antigènes de paroi cellulaire (facteur de coagulation et protéine A) sont masqués. Le kit Pastorex Staph Plus comprend des anticorps monoclonaux dirigés contre les polysaccharides capsulaires ainsi que les antigènes de paroi cellulaire.

Annexes









Annexe 2 : Dépistage des mammites subcliniques

Test de CMT (Schalm test) : Il s'effectue avant la traite et implique le contrôle de tous les quartiers.

Les mamelles sales doivent être nettoyées.

Technique de réalisation de TEST de CMT : California Mastitis Test

Vue la subjectivité de différenciation entre le degré de la lyse cellulaire, on prend on compte

Procédure	Interprétation des résultats		
<p>&- Traire pour chaque quartier quelques jets (sans écume !) de lait dans la palette du test.</p> <p>&- Incliner la palette de manière à ne laisser que 2 à 3 mL de lait par récipient (niveau marqué)</p>			<p>Négatif (-) (pas de réaction) jusqu'à env. 250'000 cellules Le mélange lait-solution du test conserve la même fluidité</p>
<p>&- Ajouter une quantité équivalente de solution test dans chaque récipient.</p> <p>&- Mélanger par rotation horizontale pendant 30 secondes de lait et la solution test.</p>			<p>Légèrement positif ou + < 1.5 millions de cellules / mL Formation de stries visibles uniquement lorsque la palette est en mouvement</p>
<p>&- Évaluer la fluidité du mélange en inclinant la palette.</p>			<p>Moyennement positif ou ++ < 5 millions de cellules / mL Formation nette d'une couche visqueuse. Possible de faire couler le mélange par portions.</p>
<p>&- Interpréter les résultats uniquement l'aspect qualitatif de test.</p>			<p>Fortement positif ou +++ > 5 millions de cellules / mL Formation d'une couche de gelée restant collée. Plus possible de faire couler le mélange par portions.</p>

Annexe 3 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus spp.*Table de lecture 36* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.* (Médecine Vétérinaire) :

Antibiotiques testés	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10UI	≤28	-	≥29	≥0,25	-	≤0,12	Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux (voir « Tests complémentaires »). Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les β-lactamases (ampicilline, ticarcilline, piperacilline.....)
Pénicilline+Novobiocine	10UI/30 µg	≤14	15-17	≥18	≥4/8	2/4	≤1/2	Traitement des mammites pendant la lactation
Oxacilline (S.aureus et S.lugdunensis)		≥4	≤2	Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de S.aureus et des staphylocoques à coagulase négative.
Céfoxitine (S.aureus) ***	30 µg	≤21	≥22	≥8	≤4	La résistance à la céfoxitine signifie la résistance à toute la famille des β-lactamines.
Oxacilline (S.C.N sauf S.lugdunensis)	≥0,5	Le disque d'oxacilline n'est pas fiable. Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de S.aureus et des staphylocoques à coagulase négative.
Céfoxitine (S.C.N sauf S.lugdunensis)***	30 µg	24	≥25	
Gentamicine**	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la streptomycine **
Neomycine/ Kanamycine	30 µg	≤13	14-17	≥18	≥64	32	≤16	La réponse pour la néomycine est valable pour la kanamycine
Vancomycine (S.aureus)	≥16	4-8	≤2	Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches vanco « S », « I » et « R » de S.C.N, car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de vancomycine est obligatoire.
Vancomycine (S.C.N)	≥16	4-8	≤2	
Erythromycine	15 µg	≤13	14-22	≥23	≥8	1-4	≤0,5	Détecter la résistance inducible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à érythromycine et clindamycine
Clindamycine	2 µg	≤14	15-20	≥21	≥4	1-2	≤0,5	
Enrofloxacin	5 µg	≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0,5	
Sulfisoxazole	250 ou 300 µg	≤12	13-16	≥17	≥5/2	-	≤256	La réponse pour le sulfisoxazole est valable pour les sulfonamides
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤10	11-15	≥16	≥4/76	-	≤2/38	-Valable pour Triméthoprime/ Sulfadiazine -La valeur ≤2/38 peut être utilisée pour les isolats des infections du tractus urinaire.
Tétracyclines	30 µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4	Les souches sensibles à la tétracycline sont sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Bactracine	130 µg	<15	-	≥15	≥2	-	<2	

*Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. Approved standard –Third Edition M31-A3. Vol.28 N° 8. February 2008.

** Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiosurveillance

*** Antibiotique testé seulement pour l'absence de résistance à la méticilline. Le CLSI recommande dans son communiqué de février 2008 de dépister cette résistance à l'aide d'un disque de céfoxitine 30 µg (FOX)

Annexes

Annexe 4 : Tableau de lecture de la galerie biochimique API Staph.

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge *	jaune
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLITol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites		
PAL	β-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	<u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u> jaune	violet
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> incolore-rose pâle	violet-rose
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-αD- glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl-αD- Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
<u>ADH</u>	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

Les tests d'acidification doivent être lus comparativement aux témoins négatif (0) et positif (GLU).

* Les tests MNE et XLT peuvent être oranges, lorsqu'ils sont entourés ou précédés de tests positifs. On doit alors les considérer comme négatifs.

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.