



Institut des Sciences  
Vétérinaires- Blida

Université Saad  
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

**Antibiorésistance des Staphylocoques en cas de mammites  
subcliniques dans la région centre Algérie**

Présenté par

**CHEURFI Abdallah**

**Devant le jury :**

|                       |           |                                  |             |
|-----------------------|-----------|----------------------------------|-------------|
| <b>Président(e) :</b> | BERBAR. A | Professeur                       | ISV BLIDA 1 |
| <b>Examineur :</b>    | MSELA. A  | MAA                              | ISV BLIDA 1 |
| <b>Promoteur :</b>    | KABIR. W  | Ingénieure de<br>laboratoire(MA) | ISV BLIDA 1 |

**Année : 2019/2020**





Institut des Sciences  
Vétérinaires- Blida

Université Saad  
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

**Antibiorésistance des Staphylocoques en cas de mammites  
subclinique dans la région centre Algérie**

Présenté par

**CHEURFI Abdallah**

**Devant le jury :**

|                       |           |                                  |             |
|-----------------------|-----------|----------------------------------|-------------|
| <b>Président(e) :</b> | BERBAR. A | Professeur                       | ISV BLIDA 1 |
| <b>Examineur :</b>    | MSELA. A  | MAA                              | ISV BLIDA 1 |
| <b>Promoteur :</b>    | KABIR. W  | Ingénieure de<br>laboratoire(MA) | ISV BLIDA 1 |

**Année : 2019/2020**

# Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu qui, par sa grâce, nous avons pu achever notre parcours et pour son aide à la réalisation de ce travail.

A Madame KABIR. W,

Qui a fait l'honneur d'encadrer ce travail, pour ses conseils pertinents, sa patience remarquable, sa disponibilité et son aide précieux qui a grandement facilité la réalisation de ce travail.

Veillez accepter l'expression de ma respectueuse gratitude

A Professeur Berbar. A,

Qui nous a fait l'honneur de bien vouloir accepter la présidence de notre jury de mémoire remerciements et hommage respectueux

A Dr Msela. A,

Qui nous a fait l'honneur de bien vouloir accepter d'examiner notre mémoire remerciements et hommage respectueux

Aux techniciens de laboratoire d'analyse de l'EPH BERROUAGHIA :

Pour l'accueil, leur patience, leur aide, leurs conseils et encouragements continus.

Enfin, je remercie tous ceux qui m'ont encouragé tout au long de mon parcours et ceux qui ont contribué à ma formation.

# DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail...*

## ***A mon père (Allah yarahmo) et à ma mère***

*Une réserve inépuisable de courage vous a permis d'accomplir votre devoir tous les jours et de vous fier au bon DIEU pour le lendemain.*

*Ce que vous avez toujours compris est que toute réussite déguise une abdication. Puisse ce travail récompenser votre patience et persévérance et tous les sacrifices que vous avez consentis au nom de la famille.*

## ***A mes frères et sœur***

*Demain ne sera pas comme hier, il sera nouveau et il dépendra de nous.*

*Notre avenir comme notre passé doit être solidaire. C'est la plus*

*Belle chose qui nous ait donnée naturellement. Notre force*

*Résidera toujours dans notre sincère entente*

*Et notre esprit de fraternité.*

***A mes amis : Abderrahmane, Hamid, Abdelhak, Nadjib, Saleh et wassim*** pour les bons moments passés ensemble dans une atmosphère familiale.

*A tous mes amis de la faculté et de la cité universitaire.*

*A tous ceux qui me sont chers et que je n'ai pas cités.*

## **RESUME**

La présente étude a deux principaux volets : isolement et identification des staphylocoques présents dans le lait des vaches suspectes atteintes de mammites (sub cliniques) et ceci au sein de Cinq fermes de la région de Berrouaghia ainsi que de mettre en évidence l'antibiorésistance de ces germes vis-à-vis quelques molécules d'antibiotiques.

Les résultats de notre travail ont permis de mettre en évidence la résistance aux antibiotiques qui constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé entraînant des échecs thérapeutiques, une prolongation des hospitalisations, une augmentation des dépenses médicales humaines et vétérinaires.

Nos résultats montrent que les souches isolées présentent une résistance aux lincosamides atteignant 51,39%, à l'ampicilline et pénicilline G à un pourcentage de 35.60% et à la fosfomycine avec 40%. Or, ces mêmes souches présente un taux de résistance nul vis-à-vis la Rifaximine et presque nul pour l'amoxicilline +l'acide clavulanique.

**Mots clés** : Mammite Sub clinique, Staphylocoques, antibiorésistance, Vache, Berrouaghia.

## **Abstract:**

The present study has two main components: isolation and identification of staphylococci present in the milk of suspicious cows suffering from mastitis (subclinical) and this within fifth farms of Berrouaghia region as well as to demonstrate the antibiotic resistance of these germs opposite a few molecules of antibiotics.

The results of our work have made it possible to highlight the resistance to antibiotics, which today constitutes one of the most serious threats to health, thus resulting in treatment failures, prolonged hospitalizations, an increase in medical expenses, human and veterinary surgeons.

Our results show that strains isolated present resistance to lincosamides up to 51.39%, to ampicillin and penicillin G where it reaches 35.60%, and to fosfomycin at 40%. However, these same strains present zero resistance to Rifaximin and almost zero for amoxicillin + clavulanic acid.

**Key words:** Subclinical mastitis, Staphylococci, antibiotic resistance, cow, Berrouaghia

■

العنقودية ( الإكلينيكي) وهذا الحالية عنصرين رئيسيين: وتحديد  
حليب المشبوهة التهاب البرواقية  
الحيوية لهذه الجراثيم. جزيئات قليلة  
الحيوية

اليوم التهديدات يؤدي الطبية . الجراحين البشريين  
والمبيطريين. وزيادة  
الحيوية ،

للينكوزاميدات حيث

51.39 أيضاً للأمبيسيلين والبنسلين حيث 35.60

للفوسفوميسين عليه . 40 بينما يمثل  
ريفاكسيمين وتقريباً للأموكسيسيلين + .

: التها . ستافيلوكوك . الحيوية .  
برواقية ،



# Sommaire

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Résumé**

**Liste des abréviations**

**Listes des figures**

**Liste des tableaux**

**INTRODUCTION GENERALE..... 1**

Introduction :..... 2

**Synthèse BIBLIOGRAPHIQUE.....4**

**CHAPITRE I : LES MAMMITES..... 5**

1. Définition de la mammité :..... 6

2. Types de mammites : ..... 6

3. Micro-organismes responsables de la mammité : ..... 7

4. Facteurs favorisant de la mammité :..... 8

4.1 Facteurs environnementaux : ..... 8

4.1.1 Climat :..... 8

4.1.2 Stabulation : ..... 9

4.1.3 Qualité de l'air à l'intérieur : ..... 9

4.1.4 Litière :..... 9

4.1.5 Stress : ..... 9

4.2 Facteurs génétiques : ..... 9

4.3 Facteurs nutritionnels : ..... 10

4.3.1 Concentrés et énergie ..... 10

4.3.2 Rapport calcium-phosphore..... 10

4.3.3 Ensilage et foin ..... 10

4.3.4 Luzerne et autres légumineuses..... 10

4.3.5 Sélénium et vitamine E..... 10

4.3.6 Silice..... 11

4.4 Facteurs physiques et éthologiques..... 11

4.4.1 Besoin du veau ..... 11

4.4.2 Hiérarchie du troupeau ..... 11

4.4.3 Utérus-glandes mammaires ..... 12

4.4.4 Rumen-glandes mammaires..... 12

**CHAPITRE II : Mammites à *Staphylococcus aureus*.....13**

|  |    |
|--|----|
| 1. Mammites à <i>Staphylococcus aureus</i> : .....                               | 14 |
| 2. Biofilms : .....  | 15 |
| 3. Traitement des mammites : .....   | 15 |
| 4. Caractéristiques générales et importance clinique de <i>S. aureus</i> : ..... | 16 |
| 4.1 Morphologie : .....  | 16 |
| 4.2 Caractères culturels et biochimiques : .....                                 | 17 |
| 4.3 Habitat et réservoirs : .....  | 17 |
| 4.4 Facteurs de virulences et physio pathogénie : .....                          | 18 |

**CHAPITRE III : Antibiotiques et antibiorésistance.....20**

|  |    |
|--|----|
| 1. Antibiotiques : .....   | 21 |
| 1.1 Définition et origine des antibiotiques : .....  | 21 |
| 1.2 Mode d'action : .....  | 21 |
| 1.2.1 Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne : .....                                      | 21 |
| 1.2.2 Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique : .....                                     | 22 |
| 1.2.3 Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs Précurseurs : .. | 22 |
| 1.2.4 Antibiotiques inhibiteurs des voies métaboliques : .....                                   | 23 |
| 1.2.5 Antibiotiques anti-anaérobies : .....  | 23 |
| 1.3 Critères de Classification : .....   | 23 |
| 1.3.1 Origine : .....  | 23 |
| 1.3.2 Mode d'action : .....  | 23 |
| 1.3.3 Spectre d'activité : .....   | 23 |
| 1.3.4 Nature chimique : .....  | 23 |
| 2. Antibiorésistance : .....   | 24 |
| 2.1 Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance : .....              | 24 |
| 2.2 Types de résistance : .....  | 25 |
| 2.2.1 Résistance naturelle (ou intrinsèque) : .....  | 25 |
| 2.2.2 Résistance acquise : .....   | 26 |
| 2.3 Mécanismes : .....   | 26 |
| 2.3.1 Inhibition enzymatique : .....   | 26 |
| 2.3.2 Réduction de la perméabilité cellulaire : .....  | 26 |
| 2.3.3 Altération (ou modification) des sites de liaison.....                                     | 27 |
| 2.3.4 Pompes (transporteurs) à efflux : .....  | 27 |

|  |    |
|--|----|
| <b>ETUDE EXPERIMENTALE</b> .....                                 | 30 |
| 1. Objectif de l'étude :.....                                    | 29 |
| 2. Cadre de l'étude :.....                                       | 29 |
| 3. Matériel et Méthodes : .....                                  | 29 |
| 3.1 Matériel :.....  | 29 |
| 3.1.1 Biologique :.....  | 29 |
| 3.1.2 Non Biologique : .....                                     | 29 |
| 3.2 Méthodes : .....   | 29 |
| 3.2.1 Prélèvements :.....  | 29 |
| 3.2.2 Isolement des <i>S.aureus</i> .....                        | 30 |
| 3.2.2.1 Préparation et ensemencement du milieu de culture :..... | 30 |
| 3.2.2.2 Ensemencement :.....                                     | 30 |
| 3.2.3 Purification et conservation : .....                       | 31 |
| 3.2.4 Identification : .....                                     | 31 |
| 3.2.5 Antibiogramme.....   | 31 |
| 3.2.5.1 Principe.....  | 31 |
| 3.2.5.2 Milieu.....  | 32 |
| 3.2.5.3 Inoculum.....  | 32 |
| 3.2.5.4 Ensemencement.....                                       | 32 |
| 3.2.5.5 Application des disques d'antibiotiques .....            | 32 |
| 3.2.5.6 Lecture.....   | 33 |
| 4. RESULTATS :.....  | 34 |
| 4.1 Prélèvements :.....  | 34 |
| 4.2 Distribution des prélèvements en fonction d'âge :.....       | 34 |
| 4.3 Examen bactériologique : .....                               | 34 |
| 4.4 Résultats de l'antibiogramme : .....                         | 35 |
| <b>DISCUSSION</b> .....  | 38 |
| <b>CONCLUSION</b> .....  | 42 |
| <b>REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES</b>                                |    |
| <b>LES ANNEXES</b>   |    |

## Liste des abréviations :

**CIP** : Ciprofloxacine.

**DA** : Clindamycine.

**DNase** : Désoxyribonucléase.

**Eap**: Extra cellular adherence protein.

**Efp**: Extra cellular fibrinogen binding protein.

**Emp**: Extra cellular matrix binding protein.

**EUCAST**: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

**GC** : Bouillon Giolitti Cantoni.

**LPV** : Leucocidine de Panton Valentine.

**MSCRAMM** : Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecule.

**PLP** : Protéines liant la Pénicilline.

**RA** : Rifampicine.

**SARM** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

**SARM-C** : SARM communautaire.

**SARM-H** : SARM hospitalier.

**SARM-L** : SARM d'élevage.

**SASM** : *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline.

**SCCmec** : Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*.

**SERAM** : Secretable Expanded Repertoire Adhésive Molecules.

**SPA** : Staphylococcal protein A.

**ST** : Séquence Type.

**TOB** : Tobramycine.

**TSB** : Trypticase Soja Bouillon.

**TSST-1** : Toxic Shock Syndrom Toxin-1.

**VA** : Vancomycine.

**SCIN** : Staphylococcal Complement Inhibitor.

**CHIPS** : Chimiotaxis inhibitory protein of Staphylococci.

**CCI**: concentration critique inferieure.

**CMI**: concentration minimale inhibitrice.

**CCS**:concentration critique superieure.

**g** : gramme.

**ml** : millilitre.

**mg** : milligramme.

**Kg** : Kilo gramme.

**TB** : Taux butyreux.

**TP** : Taux protéique.

**UHT** : Ultra Haute Température.

**Mg** : Magnésium.

**Na** : Sodium.

**K** : Potassium.

**S** : Souffre.

**P** : Phosphore.

**µg** : Micro gramme.

**N** : di-azote.

**LMR** : limite maximale de résidus.

**ANP** : Azote Non Protéique.

**MAT** : matières azotées totales.

**ArD** : antérieur droit.

**ArG** : antérieur gauche.

**PD** : postérieur droit.

**PG** : postérieur gauche.

**CMT** : Californian Mastitis Test.

**Q** : Quartier.

**Nb V** : nombre des vaches.

**Nb Q** : nombre de quartier.

## Liste des figures :

### Etude bibliographique :

| <b>Figure</b> | <b>Titre</b>  | <b>Page</b> |
|---------------|---|-------------|
| 1             | Schéma représentant l'infection de la glande mammaire (Viguié, 2009). | 14          |

### Etude expérimentale :

| <b>Figure</b> | <b>Titre</b>  | <b>Page</b> |
|---------------|---|-------------|
| 1             | Milieu Chapman ensemencé après 24h d'incubation (photos personnelles)                                 | 31          |
| 2-a           | Appareil des disques d'antibiotiques (photos personnelles)  | 32          |
| 2-b           | Boîte de pétri avec milieu gélose Mueller Hinton avec 6 disques d'antibiotiques (photos personnelles) | 32          |
| 3             | Colonies des staphylocoques jaunâtres dorées après incubation   | 34          |
| 4             | Zones d'inhibition provoquées par les antibiotiques   | 35          |
| 5             | Histogramme des pourcentages des souches Sensibles  | 35          |
| 6-a           | Histogramme des pourcentages des souches Résistant  | 37          |
| 6-b           | Histogramme des pourcentages des souches Intermédiaire  | 37          |
| 7             | Pourcentage des multi résistances des staphylocoques  | 38          |

## Liste des tableaux :

| Tableau | Titre   | Page |
|---------|---|------|
| 01      | Caractéristiques des différents types de mammites. <b>(Noireterre Philippe, 2006).</b>  | 7    |
| 02      | Antibiotiques et leurs organismes producteurs. <b>(MOHAMMEDI ,2001)</b>   | 24   |
| 03      | principaux facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance bactérienne <b>(Murthy, 2001) (Rybak, 2004).</b> | 25   |
| 04      | Diamètres des zones d'inhibition provoquées par les antibiotiques (mm).   | 36   |

# **Introduction générale**



## Introduction générale

---

Introduction :

Les antibiotiques sont une classe thérapeutique très préconisée tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. Ils sont essentiellement utilisés dans le traitement et la prévention de nombreuses maladies infectieuses d'origine bactérienne (**Madec, 2013**).

L'apparition des bactéries multi-résistantes (**BMR**) constitue un enjeu majeur de santé publique car l'arsenal thérapeutique disponible et efficace contre ces pathogènes est limité. Les cliniciens se retrouvent de plus en plus face à de véritables impasses thérapeutiques (**Sanders et al, 2011**). De plus, ces bactéries remettent en question certaines pratiques médicales comme les chirurgies et les thérapies immunosuppressives sur lesquelles repose la médecine moderne (**Martinez, 2014**).

Autrefois réservé aux structures hospitalières, la résistance aux antibiotiques s'avère plus complexe et plus étendue, en diffusion dans l'environnement, en communauté mais aussi chez les animaux de compagnie et les animaux d'élevage. Ces derniers ont été identifiés très tôt comme un réservoir potentiel de souches bactériennes multi-résistantes aux antibiotiques et en sont donc une source permanente et non négligeable dans l'écosystème de l'homme (**Guillot, 1989**) et la transmission de ces bactéries de l'animal à l'homme est possible soit par contact direct ou via la chaîne alimentaire (**Petinaki et Spiliopoulou, 2012**).

*Staphylococcus aureus*, étant une bactérie commensale et un pathogène important des mammifères, peut être à l'origine d'infections très divers allant des infections cutanées, des toxi-infections alimentaires, des mammites mais aussi des affections très graves pouvant engager le pronostic vital de l'individu (**Benito et al, 2015**). Cela est d'autant plus probable si des souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (**SARM**) sont en cause. En effet, celles-ci sont résistantes à toutes les pénicillines disponibles et autres  $\beta$ -lactamines et présentent généralement une multi-résistance ne laissant parfois que d'infimes possibilités thérapeutiques (**Becker et al, 2015**).

La SARM est l'une des bactéries multi-résistantes les plus redoutées du 21<sup>ème</sup> siècle et pour cause, sa capacité et sa rapidité à développer des résistances aux antibiotiques. Ce caractère vient orner toute une liste de facteurs de virulences (**Petinaki et Spiliopoulou, 2012**).

De nos jours ce sont les souches de SARM d'origine animale, notamment celles associées aux animaux d'élevages (**Livestock : SARM-L**) qui intriguent la communauté scientifique et les professionnels de santé, notamment, depuis que leurs potentiel zoonotique a été avéré (**Verkade et Kluytmans, 2013 ; Petinaki et Spiliopoulou, 2012 ; Benito et al, 2015**).

En Algérie, la problématique de l'antibiorésistance est un peu plus connue et mieux étudiée en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. Toutefois, les mesures de surveillance et de contrôle restent très précaires. De plus, les quelques travaux publiés à ce sujet, montrent la pertinence du danger et ce aussi bien en communauté qu'en milieu hospitalier. **(Antri et al, 2009 ; Djoudi et al, 2016).**

C'est dans cette optique que s'articule notre étude qui a pour objectif d'isoler et identifier des germes *Staphylococcus* issu de lait de vaches atteintes de mammites sub cliniques, et de mettre en évidence l'antibiorésistance de ces dernières vis-à-vis quelques molécules d'antibiotiques.

Le présent manuscrit se divise en trois parties :

- ✓ La première partie consiste en une synthèse bibliographique qui comprend trois chapitres :
  - Définition et types de mammites bovines.
  - Mammites à *Staphylococcus aureus*.
  - Antibiotique et La résistance aux antibiotiques.
- ✓ La deuxième partie s'attaque au protocole expérimental, et comporte :
  - Isolement et identification de quelques Staphylocoques.
  - Etude de l'antibiorésistance des Staphylocoques vis-à-vis de six antibiotiques.
- ✓ La troisième partie :

Dans cette partie, nous discuterons les résultats obtenus lors de cette étude, une conclusion résumera le parcours expérimental.

**Synthèse**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

**CHAPITRE I :**  
**MAMMITES**

### 1. Définition de la mammite :

La mammite est un état inflammatoire de la mamelle caractérisé par la présence de germes pathogènes dans le lait, la présence de cellules dites somatiques en nombre anormalement élevé et des modifications chimiques du lait **(Weisen, 1974)**. Elle peut se définir par l'état inflammatoire d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle quelle que soit l'origine : traumatique physique ou biologique **(Han zen, 2000)**.

Le terme « mammite » se porte à l'inflammation de la glande mammaire quelle que soit la cause, mais la cause la plus fréquente est l'invasion de la glande mammaire par les bactéries ou d'autres micro-organismes **(michel, wattiau, 2006)**.

### 2. Types de mammites :

Comme la mammite est une maladie qui s'exprime à divers degrés d'intensité et qui peut être provoquée par différents organismes, il existe tout un jargon qui se rapporte à la maladie. On parle souvent de la mammite alors qu'on devrait plutôt parler des mammites. Il est donc important de pouvoir reconnaître les différents types de mammites car cela va déterminer les actions à prendre au temps au niveau de la prévention que du traitement. Afin de clarifier les termes qui sont employés tout au long de ce texte, le tableau n°1 présente les définitions et les caractéristiques des différents types de mammites **(Jean Duval 1967)**.

**Tableau 1** : Caractéristiques des différents types de mammites (**Noireterre Philippe, 2006**).

| Type de mammite   | Symptômes caractéristiques ou définition  |
|-------------------|---|
| Clinique Aigue    | 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 répétés mais peu fortes, généralement sans fièvre. Lait grumeleux, quartiers enflés parfois. Le quartier peut devenir dur (indurations fibreuses). Les traitements à base d'antibiotiques ne fonctionnent souvent pas. |
| Gangreneuse       | Le quartier affecté est bleu et froid au toucher. La décoloration progresse du bas vers le haut. Les parties nécrotiques tombent du corps. La vache en meurt souvent.   |
| Contagieuse       | Mammite provoquée par des bactéries comme <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Streptococcus agalactiae</i> , dont les vaches infectées sont la source principale.  |
| Environnementale  | Mammite provoquée par des bactéries comme les coliformes ( <i>E. coli</i> , etc.), dont la source principale est un environnement contaminé le plus souvent par du fumier.  |

### 3. Micro-organismes responsables de la mammite :

On peut retrouver sur et dans le pis de vache un grand nombre de microorganismes. Watts (1988) a identifié 137 espèces et sous-espèces qui peuvent être associés à la glande mammaire de la vache. Plusieurs d'entre eux font partie de la flore bactérienne normale et ne causent pas, sauf exception, des mammites. Ils peuvent même au contraire protéger le pis des infections de bactéries pathogènes.

Plusieurs autres micro-organismes peuvent par contre provoquer l'infection des glandes mammaires. Le plus fréquemment rencontrés, ceux qui causent environ 90% des mammites, sont présentés dans l'annexe 01. Principalement, on distingue :

- ✓ **Les micro-organismes contagieux** : qui survivent et prolifèrent sur la peau et les blessures aux trayons, ont comme source principale les vaches infectées. Il s'agit de *Streptococcus agalactiae*, *staphylococcus aureus* et *Streptococcus dysgalactiae* (**Benoit DURIEUX, 2020**).
- ✓ **Les micro-organismes environnementaux** : *Escherichia coli* et autres coliformes (*Streptococcus uberis*) ne sont que de passage sur le trayon, leur présence reflète plutôt un haut niveau de contamination du sol, de la litière, de l'eau par du fumier surtout (**Benoit DURIEUX, 2020**).

#### 4. Facteurs favorisant de la mammite :

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 et peuvent agir tous en même temps. Il est de plus difficile de généraliser quant à l'importance relative de chacun de ces facteurs, certains affectant certains microorganismes en particulier. **Klastrup et al. (1987)** évaluent que 25% de la susceptibilité aux infections sont attribuables aux facteurs environnementaux, 20% aux facteurs génétiques, et 50% à la régie de troupeau (**Jean Duval 1967**).

##### 4.1 Facteurs environnementaux :

###### 4.1.1 Climat :

Le climat peut avoir une influence directe ou indirecte sur l'apparition de la mammite. **Eckles, (1913) et Sheldon (1880)** insistent beaucoup sur le fait que l'exposition au froid intense, aux courants d'air, à une humidité excessive ou à une chaleur extrême prédispose à la mammite. **D'après Klastrup et al (1987)**, les extrêmes températures interagissent avec d'autres facteurs pour favoriser l'apparition de la mammite mais vont rarement à eux seuls entraîner son apparition.

Les extrêmes températures 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, 1988**).

#### 4.1.2 Stabulation :

D'après une étude serbe (**Milojevic, 1988**), il y aurait 27% moins de cas de mammite infra-clinique et 42% moins de cas de mammites cliniques dans les troupeaux en stabulation libre que dans les troupeaux en stabulation entravée.

#### 4.1.3 Qualité de l'air à l'intérieur :

Des courants d'air, beaucoup d'humidité et des changements fréquents de températures dans une étable sont des facteurs qui contribuent à la fréquence de la mammite. Par exemple, la bactérie *Klebsiella pneumoniae* cause plus d'infection quand l'humidité relative est basse (**Turner et Salmonsén, 1973**).

#### 4.1.4 Litière :

Qu'on soit en stabulation libre ou entravée, la litière a un rôle important dans l'incidence de la mammite. Lorsqu'on pense au lait mammitique qui tombe par terre, à l'humidité qui favorise le développement microbien sur la litière et au fait qu'il est commun pour une vache de passer 14 heures sur 24 en contact avec la litière, on comprend facilement cette importance.

Dans cette expérience où des vaches étaient gardées avec ou sans litière, le taux de mammites était plus du double sans litière. De la litière insuffisante dans un élevage en stabulation libre, surtout dans un grand troupeau, peut mener à des situations graves dans le cas des mammites contagieuses.

Différents matériaux utilisés comme litière peuvent affecter la croissance de différents microorganismes. La paille est le matériau le plus recommandable en général. La paille d'avoine coupée et le bran de scie de cèdre sont moins favorables au développement rapide des microorganismes pathogènes que le papier journal (**Brim et Timms, 1989**).

#### 4.1.5 Stress :

Plus un animal subit du stress dans son environnement, moins son système immunitaire est efficace, et moins il résiste aux invasions microbiennes, plus les chances des mammites augmentent (**Giesecke, 1985**). Cet auteur a même démontré que le stress affecte l'intégrité des cellules intra-mammaires.

#### 4.2 Facteurs génétiques :

Les vaches sélectionnées pour plusieurs traits ont de plus haut décompte somatique (meilleure réponse immunitaire), nécessite près de deux fois moins de traitement et on jette



moitié moins de leur lait que les vaches sélectionnées pour un seul trait, qui par contre produisent plus de lait (**Vaamonde et Adkinson, 1989**)

### **4.3 Facteurs nutritionnels :**

Malgré plusieurs études sérieuses sur le sujet, les liens entre l'alimentation et la mammite soulèvent encore des interrogations dans les milieux scientifiques. Deux pratiques qui accroîtraient les risques de mammite sont les changements rapides dans l'alimentation et l'excès ou le déséquilibre des différentes composantes de la ration (**BAREILLE ET BEAUDEAU ,2003**).

#### **4.3.1 Concentrés et énergie**

Il est généralement recommandé de diminuer la quantité de concentrés donnée à une vache atteinte de mammite. Il semble que cela soit aussi vrai pour prévenir la mammite selon une étude allemande (**Klug et al 1989**).

#### **4.3.2 Rapport calcium-phosphore**

Un rapport calcium-phosphore inadéquat dans la ration amène des problèmes de fièvre du lait au vêlage (**Radostits, 1961**).

#### **4.3.3 Ensilage et foin**

Les ensilages de mauvaise qualité sont très néfastes pour le système immunitaire. Les protéines et les glucides surchauffés peuvent tuer les globules blancs qui protègent le pis. Les vaches nourries au foin et au grain ont de toute façon une plus grande résistance aux pathogènes que des vaches nourries à l'ensilage (**Pounden et al, 1952**).

#### **4.3.4 Luzerne et autres légumineuses**

Les légumineuses, et particulièrement la luzerne, contiennent des substances oestrogéniques dont la concentration varie avec la maturité de la plante. Le fait d'ensiler ces légumineuses ne diminue pas leurs propriétés oestrogénique. Par un mécanisme physiologique encore mal expliqué, ces substances oestrogéniques externes ont tendance à favoriser la mammite. Cet apport oestrogénique encourage un développement prématuré du pis et favorise l'incidence de mammite environnementale selon les travaux de Bushnell cités par (**Klastrup, 1987**).

#### **4.3.5 Sélénium et vitamine E**

Dans les dernières années, plusieurs chercheurs se sont penchés sur l'utilisation de suppléments et le rôle du sélénium et de la vitamine E dans la prévention et le traitement de la mammite. Le maintien d'un taux adéquat de sélénium dans l'organisme permet de prévenir la mammite, de rendre l'infection moins forte et de la faire durer moins.

Longtemps lorsqu'elle a lieu. 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**).

#### 4.3.6 Silice

Des chercheurs finlandais (*Parantainen, 1987*) ont noté que le taux de silice dans le lait mammitieux n'était que de 0,39mg/L tandis qu'il est de 0,81mg/L dans le lait normal. De même, le taux de silice dans le sérum sanguin de vaches atteintes de mammite est de 1,02mg/L plutôt que de 1,63mg/L pour les vaches non atteintes. La silice, dont le rôle est semblable à celui du sélénium, a un effet marqué sur la formation de radicaux libres, la peroxydation des lipides et l'activité macrophage. On peut accroître la quantité de silice dans la ration en donnant des aliments riches en silice comme pailles de céréale

### 4.4 Facteurs physiques et éthologiques

#### 4.4.1 Besoin du veau

La célèbre phytothérapeute animale **Juliette De Baïracli-levy, (1973)** croit que l'une des causes principales de la mammite est l'empêchement pour la vache de pouvoir profiter du plaisir et du stimulus de laisser téter son veau. Elle distingue donc dans le fait de l'allaitement du veau un facteur « psychologique » et un facteur physique.

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 (**Tsolov, 1989**) ont constaté 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.

#### 4.4.2 Hiérarchie du troupeau

En stabulation libre ou au pâturage, il se crée une hiérarchie dans le troupeau, phénomène encore plus apparent chez la chèvre que chez la vache. Il est possible que les dernières vaches dans la hiérarchie du troupeau, qui sont souvent harassées par les autres, aient plus tendance à développer des maladies. La stabulation libre a l'avantage d'établir clairement les relations hiérarchiques entre les vaches. Des vaches en stabulation entravées peuvent vivre comme un stress important le fait de se retrouver soudain dans un parc d'exercice ou les relations ne sont pas claires entre les vaches (**Marie-France Bouissou, Y.Vaslet 1965**)

#### 4.4.3 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 et Heinonen, 1989**). Elles auraient

Jusqu'à 3 fois plus de chances de faire des mammites (**Schukken, 1989**). La mammite est clairement associée à la rétention du placenta dans le cas des mammites causées par actinomyces pyogènes (**Zdunczyk, 1992**). Ce genre de mammite représente 17% des cas en Allemagne. Souvent, les mammites qui apparaissent dans les deux mois qui suivent le vêlage sont associées à un utérus mal nettoyé. Les décharges de matières purulentes souillent la queue, l'arrière de l'animal et le sol, ce qui favorise la contamination de l'environnement et, par la suite, du pis. Certains vétérinaires vont plus loin en disant que les organes producteurs peuvent servir de réservoir d'infection. Les pathogènes voyageraient alors dans le sang jusqu'aux glandes mammaires.

#### 4.4.4 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, 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 à Gram-positive qui envahissent le pis (**Whittaker, 1985**).

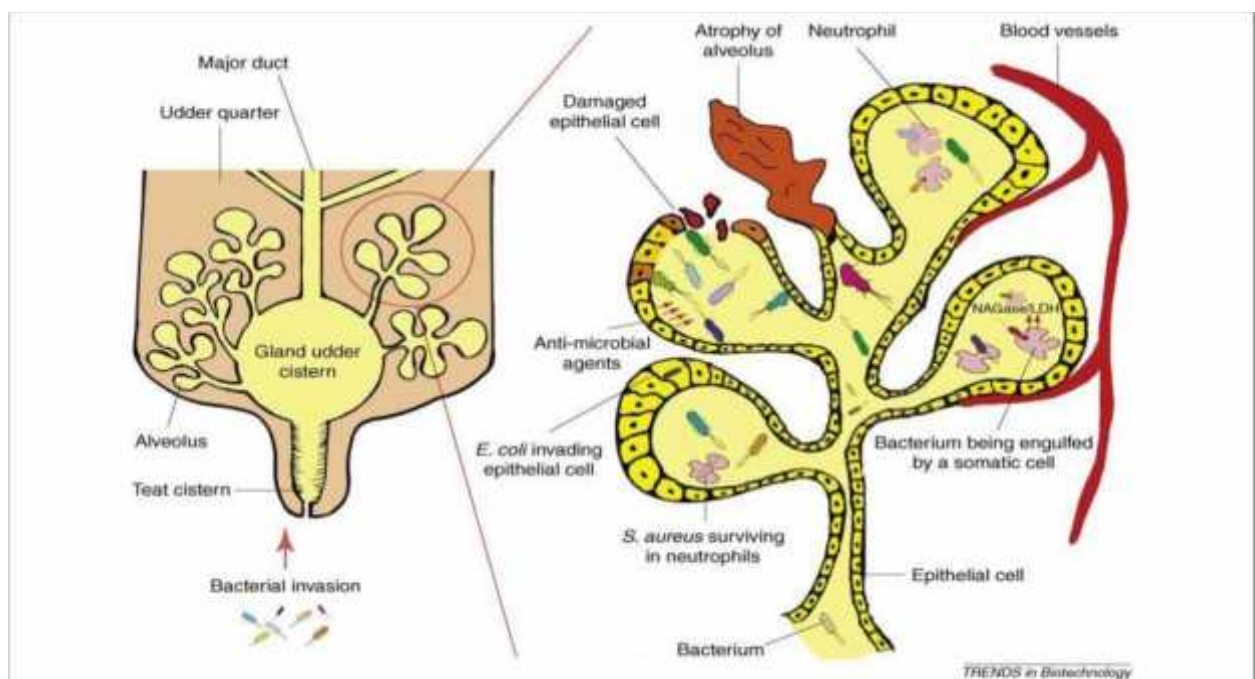
**CHAPITRE II :**  
**Mammites à**  
**Staphylococcus aureus**

1. Mammites à *Staphylococcus aureus* :

*Staphylococcus aureus* fait partie de la microflore de la peau du pis, il peut coloniser les lésions de la peau ainsi que le canal du trayon et provoquer une infection (**Bjork, 2013**).

*S. aureus* représente l'une des causes les plus importantes des mammites latentes et subcliniques chroniques dans les élevages laitiers. Ces mammites sont difficiles à éradiquer ce qui conduit à une contamination du lait. La présence de ce germe dans le lait présente un risque pour la santé humaine car certaines de ses souches produisent des entérotoxines dont l'ingestion provoque des toxi-infections, l'excrétion de *S. aureus* dans le lait de quartier varie de 0 à  $10^4$ - $10^5$  bactéries/ml en cas de mammites subcliniques et jusqu'à  $10^8$  bactéries/ml en cas de mammites cliniques. Dans le cas du lait de mélange,  $10^2$  à  $10^3$  *S. aureus*/ml sont dénombrés. Le pourcentage des souches toxigènes est de 4 à 10% chez les souches bovines (**Brisabois et al, 1997**).

Une fois que la bactérie est à l'intérieure du canal du trayon, elle sécrète des protéines qui s'attachent aux cellules se trouvant à l'intérieur du canal. *S. aureus* commence à se multiplier sans être éliminé dans le lait et produit une toxine qui détruit et endommage les tissus producteurs de lait ce qui provoque la formation d'un tissu cicatriciel. Cette bactérie s'adapte à la survie à l'intérieur de la glande mammaire et peut échapper aux cellules du système immunitaire ainsi qu'aux antibiotiques en formant des biofilms ou en pénétrant à l'intérieur des globules blancs de la vache. A l'issue de cette infection, il y'a formation parfois d'un abcès avec une importante diminution de la production laitière (**Arnold, 2011**).



**Figure 1** : Infection de la glande mammaire (Viguié, 2009).

## 2. Biofilms :

*Staphylococcus aureus* est un important agent étiologique des mammites, ceci peut être expliqué par sa capacité à produire plusieurs facteurs de virulence dont les biofilms qui jouent un rôle crucial dont l'adhésion et la colonisation des tissus de la glande mammaire **(Marques et al, 2016)**.

Les biofilms se définissent par des structures hétérogènes formées par des populations bactériennes et englobées dans une matrice extracellulaire, fixées sur des surfaces naturelles ou artificielles **(Roux et al, 2006)**. La matrice extracellulaire est formée principalement de polysaccharides. Les biofilms contiennent également des composants venant de l'environnement dans lequel ils se sont formés. Ces structures hétérogènes peuvent se former sur une très grande variété de surface à savoir les tissus vivants, les dispositifs médicaux, les canalisations industrielles ...etc. **(Donlan, 2002)**.

Au sein d'un biofilm, les bactéries communiquent entre elles en produisant des particules chimiotactiques. La disponibilité des nutriments, la mobilité des bactéries, la présence de facteurs tensioactifs sont autant de facteurs qui influencent la formation de biofilm **(Hassan et al. 2011)**.

Dans une étude expérimentale chez les ovins, une souche de *Staphylococcus aureus* produisant un biofilm a montré une capacité de colonisation de la glande mammaire plus élevée que celle d'une même souche non productrice de biofilm. Il a été constaté que *S.aureus* associé au lait est plus susceptible de produire un biofilm que les autres souches se trouvant en dehors de la mamelle. Ces résultats suggèrent que la production de biofilm est un facteur de risque pour les infections de la glande mammaire **(Prenafeta, 2014)**.

Les biofilms protègent les bactéries des antibiotiques causant souvent un échec thérapeutique. La réponse au traitement des vaches souffrant de mammites chroniques à *S.aureus* dépend de l'âge de l'animal, de son état immunitaire, de la voie d'administration de l'antibiotique et de la production de biofilm **(Seixas et al, 2015)**.

## 3. Traitement des mammites :

La mise en place d'un protocole thérapeutique doit prendre en considération le diagnostic, le germe, l'animal, l'antibiotique à utiliser et la réponse au traitement. Afin de réussir la thérapie, il est important d'intervenir dès que les symptômes commencent à apparaître. L'antibiothérapie doit être prolongée pendant au moins trois traites successives et doit se réaliser dans les

meilleures conditions d'asepsie afin d'éviter de nouvelles infection ou une surinfection (**Hanzen, 2009**).

L'objectif du traitement des mammites cliniques en période de lactation est l'obtention d'une guérison clinique c'est-à-dire disparition des symptômes et d'une guérison bactériologique. L'injection d'un antibiotique par voie intra-mammaire devient alors systématique. Les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines sont les plus utilisés (Pénicilline, Céphalosporine) seuls ou en association avec d'autres familles d'antibiotiques telles que les aminosides ou colistine. Le traitement intra-mammaire peut être accompagné d'une antibiothérapie générale selon la sévérité de la mammite. Dans ce cas-là, les antibiotiques utilisés, sont ceux qui diffusent bien dans la glande mammaire (Macrolides). Il est important de vérifier l'absence d'antagonisme entre l'antibiotique local et général. Afin d'éviter la présence de résidus d'antibiotiques, à la fin du traitement, il faut respecter un délai d'attente avant de livrer le lait, ceci s'applique même pour les quartiers qui n'ont pas été traités (**Gourreau, 2008**).

La mammite subclinique doit être systématiquement traitée au tarissement dans le but de guérir les infections qui sont apparues durant la lactation et de prévenir les nouvelles infections lors du tarissement. Par ailleurs un traitement peut être envisagé durant la lactation afin d'accélérer l'élimination de l'infection et de réduire les pertes de la qualité et de la quantité de lait (**Hanzen, 2009**)

#### 4. Caractéristiques générales et importance clinique de *S. aureus* :

Le genre *Staphylococcus* renferme 52 espèces et 28 sous-espèces dont la majorité est isolée chez les animaux (**LPSN, 2017**).

*S. aureus* est un pathogène majeur pour l'Homme et les animaux. Cette espèce a été subdivisée en deux sous-espèces ; *S. aureus* subsp. *Aureus* et *S. aureus* subsp. *Anaerobius*. Cette dernière a été isolée pour la première fois en 1985 à partir d'abcès chez le mouton (**De la Fuente et al, 1985**). Elle est beaucoup moins connue mais peut être à l'origine d'infections chez les animaux et de toxi-infections alimentaires (**TIAC**) chez l'Homme (**Delarras, 2007**).

##### 4.1 Morphologie :

*S. aureus* est une Cocci à Gram-positif. Son diamètre moyen est d'environ 0,5 à 1µm. Il est immobile, non sporulé et souvent encapsulé. Il se divise de façon caractéristique selon plusieurs plans et s'organise le plus souvent en amas ayant la forme d'une grappe (leur nom vient d'ailleurs

du grec « *staphylo* » qui signifie grappe de raisin) mais peut aussi se trouver isolé ou groupé par deux (diplocoque) ou par quatre (tétrade) (**Vos et al, 2009**).

#### 4.2 Caractères culturels et biochimiques :

*S. aureus* est une bactérie non exigeante, sa croissance sur des milieux usuels est facile. C'est un mésophile dont l'optimum de croissance est à 37°C avec un pH de 6 à 7. En milieu liquide, il forme un trouble homogène et les colonies observées sur milieu solide sont lisses, opaques, convexes, rondes (à bord net). Il produit un pigment caroténoïde qui confère une coloration jaune-orangé à ses colonies. Leur diamètre est compris entre 1 et 3 mm. Sa croissance sur toute la hauteur du tube de gélose profonde révèle son caractère aéro-anaérobie facultatif (**Le Loir et Gautier, 2010**).

*S. aureus* peut également croître en milieu hostile, pouvant tolérer de fortes concentrations de NaCl (10%). La gélose Chapman est un milieu sélectif hypersalé très utilisé au laboratoire pour son isolement. Sur gélose au sang les colonies observées peuvent être bêta-hémolytiques révélant ainsi la production d'une hémolysine (**Le Loir et Gautier, 2010**).

Quatre éléments sont recherchés en routine pour une identification rapide

- ❖ L'activité catalase positive, distingue les *Staphylocoques* des *Streptocoques* et des *Entérocoques*.
- ❖ La staphylo coagulase : le test de la coagulase en tube est communément utilisé comme marqueur de l'identification de *S. aureus*.
- ❖ La fermentation du mannitol, contrairement à la plus part des *Staphylocoques* à coagulase négative, *S.aureus* est capable de fermenter ce polyol.
- ❖ La désoxyribonucléase (**DNase**) aussi nommée la thermonucléase.

#### 4.3 Habitat et réservoirs :

Grace à ces capacités d'adaptation et de résistance au stress, *S. aureus* est capable de survivre dans un large éventail d'habitats environnementaux. C'est un germe ubiquiste, retrouvés dans le sol, l'air et l'eau. Il est aussi un commensal extrêmement fréquent de la peau et des cavités naturelles de l'Homme et des animaux telles que la cavité buccale, les voies respiratoires supérieures, le tube digestif et le tractus uro-génital. Chez l'Homme les fosses nasales semblent être le site préférentiel de *S. aureus*, on estime que 20% des adultes en sont des porteurs de façon permanente, environ 30% le sont de façon intermittente et 50% ne sont jamais porteurs (**Wertheim et al, 2005**).



Contrairement à certaines espèces de Staphylocoques qui ont un hôte préférentiel, *S.aureus* semble être capable de coloniser tous les mammifères même si différents biotypes de souches de *S.aureus* pourraient être raccordés à des hôtes spécifiques (**Vos et al, 2009**).

*S. aureus* est l'un des principaux agents de toxi-infections alimentaires chez l'Homme (**Le Loir et al, 2003**). Il peut se retrouver dans les aliments comme, le lait, les produits laitiers ou la viande.

Cela peut être dû à une contamination primaire de la matière première d'origine animale révélant ainsi un potentiel zoonotique de la bactérie. La contamination secondaire a lieu principalement au cours de la fabrication et/ou le conditionnement de l'aliment dans l'industrie agro-alimentaire ; dans ce cas la matière première peut être saine au départ. Ces contaminations sont souvent liées à un défaut d'hygiène du matériel de production ou parfois même du personnel (**Gultiérrez et al, 2012**).

#### 4.4 Facteurs de virulences et physio pathogénie :

Le développement d'une infection s'effectue en plusieurs étapes au cours desquels l'agent infectieux déploie ses facteurs de virulence. L'apparition ou pas d'une maladie clinique dépend de la qualité de la réponse immunitaire de l'hôte et de la virulence des souches impliquées dans l'infection en question. Pour qu'une bactérie puisse coloniser un tissu, il faut au préalable qu'elle y adhère. L'adhésion est donc la première étape de l'infection. Après la colonisation, si le système immunitaire de l'hôte est défaillant les bactéries se multiplient et diffusent dans l'organisme pour atteindre des organes cibles ou des sites de prédilection et les premiers symptômes de la maladie apparaissent (**Rachel et al, 2008**).

Pour ce faire, *S. aureus* dispose de tout un arsenal de facteurs de virulence principalement représentés par : différents constituants de la paroi, des protéines de surface et plusieurs autres

Protéines sécrétées. Les différents facteurs de virulence de *S. aureus* vont intervenir à différents stades au cours de l'infection afin de contourner les défenses de son hôte. La diversité des facteurs de virulence chez *S. aureus* explique le polymorphisme clinique des infections qu'il engendre (**Harraghy et al, 2003 ; Novick et al, 2003**).

Après la colonisation, *S. aureus* peut persister sur des surfaces biotiques ou abiotiques grâce à sa capacité à former un biofilm. Cette structure protège la bactérie des défenses de l'hôte et de l'action des antimicrobiens (Otto, 2012). Il est aussi capable de former de petites colonies appelées small colony variants (**SCVs**) qui lui permettent de persister d'avantage et d'engendrer à la longue des infections récurrentes (**Rachel et al, 2008**).

L'extension locale se fait grâce à la dégradation de la matrice tissulaire par un ensemble d'enzymes et la diffusion hématogène est assurée par la coagulase et la staphylokinase. La première assure la formation de microthrombi septique et l'action de la seconde conduit à la fragmentation de ces derniers et la dislocation des métastases septiques (**Denges et al, 2000 ; Lowy, 1998**).

La multiplication et l'invasion impliquent la mise en jeu d'un ensemble de facteurs d'échappement aux défenses de l'hôte et de destruction des cellules et des tissus de l'hôte (**Lin et al, 2010**). Ils sont représentés par l'ensemble des facteurs sécrétés : les exotoxines. Elles sont classées en quatre groupes :

Les toxines à activité super-antigénique (entérotoxines, TSST-1) cytolytique (cytolysines et leucocidines), divers enzymes (lipases, nucléases, protéases, hyaluronidase, staphylokinase) et des protéines comme Staphylococcal Complement Inhibitor (SCIN) et Chimiotaxis inhibitory protein of Staphylococci (CHIPS) (**Foster, 2005**).

De plus, *S. aureus* possède une grande capacité à acquérir des résistances aux antibiotiques (**Watkins et al, 2012**). Cet atout majeur fait la réputation de ses souches résistantes à la méthicilline considérées comme des pathogènes redoutables.

**CHAPITRE III :**  
**Antibiotiques et**  
**antibiorésistance**

## 1. Antibiotiques :

### 1.1 Définition et origine des antibiotiques :

La découverte revient au **Dr Fleming** en 1928 qui observa que ses cultures bactériennes de Staphylocoque, dans des boîtes de Pétri, avaient été contaminées par des colonies de moisissures d'un champignon microscopique, *Penicillium notatum*, et qu'autour des colonies de moisissure, la bactérie ne s'était pas développée. Il émit l'hypothèse qu'une substance sécrétée par le champignon était responsable de ce phénomène et lui donna le nom de pénicilline. Cependant, l'utilisation médicale ne fut découverte qu'en 1939 par le pharmacologiste Howard Florey et le biochimiste Ernst Chain (**Woerther et Andremont, 2012**).

Le terme « antibiotique » fut proposé en 1941 par Waksman pour désigner toute substance chimique produite par un micro-organisme et capable d'inhiber le développement ou de détruire d'autres micro-organismes (**Courvalin et al.2001**). Par la suite, cette notion s'est étendue aux substances semi-synthétiques ou même synthétiques ayant la même fonction (**Nauciel et Vildé, 2005**). L'antibiotique doit répondre aux critères de la définition de Paul Ehrlich sur la chimiothérapie. Pour ce dernier, une substance chimio-thérapeutique utilisable par voie générale dans le traitement des maladies infectieuses doit être nuisible pour le microorganisme pathogène mais inoffensive pour les cellules de l'hôte. De ce fait, un nombre restreint d'antibiotiques découverts est utilisés en médecine thérapeutique (**Walsh, 2003**).

### 1.2 Mode d'action :

Pour pouvoir être utilisable en pratique clinique, un antibiotique doit se caractériser par une action spécifique sur les germes visés sans perturber le fonctionnement des cellules eucaryotes (hôte). Un antibiotique devra donc idéalement affecter une voie métabolique absente ou peu active chez les eucaryotes mais essentielle aux procaryotes, ou atteindre une cible spécifique aux procaryotes. (**Françoise Van Bambeke, 2008**).

Les antibiotiques actuels peuvent se diviser en 5 groupes :

#### 1.2.1 Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne :

Les cellules eucaryotes animales ne possèdent pas de paroi. Les bactéries par contre sont entourées d'une coque en peptidoglycane. Plusieurs classes d'antibiotiques prennent pour cible des enzymes intervenant dans la synthèse de cette paroi. Dans cette catégorie, nous trouvons :

- les  $\beta$ -lactames, qui inhibent la transpeptidase intervenant dans la synthèse de la paroi.
- les glycopeptides, qui se lient à un intermédiaire de synthèse.
- quelques molécules d'intérêt mineur (fosfomycine, cyclosérine, bacitracine, acide fusidique, polymyxine et, dans une certaine mesure, la néomycine). **(Françoise Van Bambeke, 2007/ 2008)**

### 1.2.2 Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique :

Les ribosomes procaryotes ne sont pas constitués des mêmes protéines que les ribosomes eucaryotes, et ont d'ailleurs des coefficients de sédimentation différents [70S pour les ribosomes procaryotes (50S pour la sous-unité lourde et 30S pour la sous-unité légère) et 80S pour les ribosomes eucaryotes (60S pour la sous-unité lourde et 40S pour la sous-unité légère)]. Il existe des inhibiteurs :

- de la sous-unité 50S, qui empêchent la fixation d'un nouvel acide aminé sur la chaîne en croissance (phénicolés) ou le transfert de la chaîne en croissance du site A vers le site P (macrolides, lincosamides, streptogramines).

- de la sous-unité 30S, qui empêchent ou perturbent la liaison des aminoacyl-ARNt aux ribosomes (tétracyclines, aminoglycosides ; **(Françoise Van Bambeke, 2007/ 2008)**).

### 1.2.3 Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs

#### Précurseurs :

On distinguera les antibiotiques actifs d'une part sur la synthèse des ARN et d'autre part, sur la synthèse des ADN ou de leurs précurseurs.

- Les inhibiteurs de l'ARN polymérase sont représentés par la classe des ansamycines, tandis que les inhibiteurs de l'ADN-gyrase regroupent les quinolones. Ces 2 familles d'antibiotiques doivent leur spécificité d'action aux différences qui existent entre les enzymes procaryotes et eucaryotes et qui permettent la reconnaissance spécifique d'un type de cible exclusivement.

- Les sulfamidés agissent sur la synthèse de l'acide folique, un cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques à incorporer dans les acides nucléiques. Leur spécificité d'action provient du fait que les eucaryotes ne synthétisent pas d'acide folique.

- Les diaminopyridines inhibent la réduction de l'acide folique en tirant parti de la différence de sensibilité de la dihydrofolate réductase bactérienne par comparaison avec l'enzyme des cellules eucaryote **(Françoise Van Bambeke, 2007/ 2008)**.

### 1.2.4 Antibiotiques inhibiteurs des voies métaboliques :

Chez les procaryotes, le métabolisme procède de voies très variées car ils ont acquis une capacité d'adaptation à la vie dans des milieux nutritifs et des conditions de survie très différentes des eucaryotes. Malgré ce fait, le nombre de molécules d'antibiotiques agissant à ce niveau et utilisables en clinique est très réduit (**Françoise Van Bambeke, 2007/ 2008**).

### 1.2.5 Antibiotiques anti-anaérobies :

Certaines bactéries sont capables de vivre en anaérobie en utilisant des voies d'oxydo-réduction indépendantes de l'oxygène, et peuvent atteindre des niveaux de potentiel redox nettement plus bas que chez les eucaryotes. Ceci permet l'activation métabolique spécifique de certaines molécules, comme les nitroimidazoles, et leur confère un effet particulier sur ces organismes (**Françoise Van Bambeke, 2007/ 2008**).

## 1.3 Critères de Classification :

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

### 1.3.1 Origine :

Élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique) (**MOHAMMEDI 2001**)

### 1.3.2 Mode d'action :

Paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques (**MOHAMMEDI 2001**)

### 1.3.3 Spectre d'activité :

Liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large) (**MOHAMMEDI 2001**)

### 1.3.4 Nature chimique :

Très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle  $\beta$  lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse (**MOHAMMEDI 2001**).

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles ( $\beta$ -lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.) (**MOHAMMEDI, 2001**).

Tableau 02 : Antibiotiques et leurs organismes producteurs. (MOHAMMEDI ,2001)

| antibiotique           | Organisme producteur            | Activité                  | Site ou mode action    |
|------------------------|---------------------------------|---------------------------|------------------------|
| <b>pénicilline</b>     | <i>Penicillium chrysogenum</i>  | Grame positive            | Synthèse de parois     |
| <b>céphalosporine</b>  | <i>Cephalosporium acremonum</i> | Large spectre             | Synthèse de parois     |
| <b>Griséofulvines</b>  | <i>Penicillium griseofulvum</i> | Champignons dermatophytes | microtubules           |
| <b>Bacitracine</b>     | <i>Bacillus subtilis</i>        | Grame positive            | Synthèse de parois     |
| <b>polymyxine B</b>    | <i>Bacillus polymyxa</i>        | Grame négative            | Membrane cellulaire    |
| <b>Amphotericine B</b> | <i>Streptomyces nodosus</i>     | champignons               | Membrane cellulaire    |
| <b>érythromycine</b>   | <i>Streptomyces erythreus</i>   | Grame positive            | Synthèse des protéines |
| <b>néomycine</b>       | <i>Streptomyces fradiae</i>     | Large spectre             | Synthèse des protéines |
| <b>streptomycine</b>   | <i>Streptomyces griseus</i>     | Grame négative            | Synthèse des protéines |
| <b>Tétramycine</b>     | <i>Streptomyces rimosus</i>     | Large spectre             | Synthèse des protéines |
| <b>Vancomycine</b>     | <i>Streptomyces orientalis</i>  | Grame positive            | Synthèse des protéines |
| <b>gentamycine</b>     | <i>Micromonospora purpurea</i>  | Large spectre             | Synthèse des protéines |
| <b>Rifamycine</b>      | <i>Streptomyces mediterrane</i> | Tuberculose               | Synthèse des protéines |

## 2. Antibiorésistance :

Lorsqu'une population de bactéries est soumise à l'action d'un antibiotique dans son milieu, elle subit une pression de sélection, qui favorise les cellules qui sont les mieux capables de résister à l'effet de ces molécules. Petit à petit, l'émergence de modifications génétiques permettant un niveau de résistance plus élevé se trouve ainsi sélectionnée (Stephen et P Palumbi, 2001).

En fait, une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre *in vivo* à la suite d'un traitement (Murthy, 2001).

### 2.1 Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance :

Les principaux facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance bactérienne sont présentés dans le tableau n° 2.

**Tableau 03** : principaux facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance bactérienne (*Murthy, 2001*) (*Rybak, 2004*).

| Facteurs   | Exemples (liste non exhaustive)   |
|--|---|
| Émergence de la résistance                                   | Usage abusif d'antibiotiques ;<br>Gravité accrue de l'état des malades hospitalisés ; Manque d'observance ;<br>Durée trop courte ou dose sous thérapeutique ;<br>Diagnostic non confirmé d'infection bactérienne ;<br>Utilisation inadéquate d'antibiotiques dans les pays en voie de développement.  |
| Propagation des souches résistantes                          | Mesures d'hygiène inadéquates dans les hôpitaux ;<br>Non-respect des directives de lutte contre les infections ; Promiscuité des patients hospitalisés ;<br>Réduction du personnel infirmier et de soutien ; Déplacements accrus des patients (transferts de patients colonisés ou infectés entre hôpitaux et milieu communautaire) ; Voyages internationaux. |
| Utilisation d'antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire | Animaux destinés à la consommation ;<br>Agriculture et aquaculture.   |
| Utilisation d'antiseptiques et de Désinfectants.             | Agents antibactériens dans les produits d'entretien ménager, le dentifrice, les pastilles contre le mal de gorge, les savons, etc.  |

## 2.2 Types de résistance :

### 2.2.1 Résistance naturelle (ou intrinsèque) :

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien.



Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du *Pseudomonas* aux macrolides ou des bactéries à gram négatif à la vancomycine est naturelle **(Mandell, 2009 ; Lewis, 2009 ; Yamashita, 2000)**.

#### 2.2.2 Résistance acquise :

Les bactéries peuvent développer une résistance (souvent instable) à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes d'un autre micro-organisme **(Mandell, 2009 ; Lewis, 2009 ; Yamashita, 2000)**.

#### 2.3 Mécanismes :

Il existe quatre principaux mécanismes par lesquels les micro-organismes développent de la résistance :

##### 2.3.1 Inhibition enzymatique :

Le micro-organisme produit une enzyme qui détruit ou inactive l'antibiotique. La production enzymatique peut être induite par un facteur externe (un autre antibiotique) ou constante (non affectée par stimuli externes).

On appelle inductible une résistance qui se produit à la suite d'une exposition à un agent d'une classe pharmacologique donnée et constitutive lorsque les gènes à l'origine de la résistance s'expriment en permanence, même en l'absence de tout antibiotique **(Mandell, 2009 ; Lewis, 2009 ; Yamashita, 2000)**.

##### 2.3.2 Réduction de la perméabilité cellulaire :

Une altération des porines dans la paroi des bactéries à gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action.

Cette forme de résistance s'exerce généralement à l'endroit de plusieurs antibiotiques appartenant à plus d'une classe, étant donné que de nombreux médicaments différents peuvent emprunter la même porine.

D'autre part, la résistance est spécifique quand un seul agent emprunte cette porine. Par exemple, la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipenem illustre la résistance spécifique causée par la perte d'une porine propre aux carbapénèmes.

Les mutations des porines joueraient un rôle important dans l'émergence d'une résistance, particulièrement à la suite d'une réduction du calibre des canaux ou du nombre de porines.

L'imperméabilité liée aux porines s'associe souvent à la synthèse de  $\beta$ -lactamases pour conférer une résistance à la bactérie (**Knothe, 1983 ; Pitout, 2004**).

#### 2.3.3 Altération (ou modification) des sites de liaison

Phénomène engendré par des chromosomes ou des plasmides, ce mécanisme de résistance produit une baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action (**Mandell, 2009 ; Yamashita, 2000 ; Pitout, 2004**).

#### 2.3.4 Pompes (transporteurs) à efflux :

L'antibiotique ne peut atteindre son site d'action à cause du pompage actif de l'antibiotique à l'extérieur de la bactérie (efflux).

Les transporteurs d'efflux de plusieurs médicaments sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de nombreux agents antibactériens. Ces pompes ont besoin d'énergie. L'exposition aux antibiotiques favorise une surexpression par mutation de transporteurs, entraînant une hausse de la résistance bactérienne.

Parmi les bactéries d'importance clinique munies d'une pompe à efflux comme mécanisme de résistance, on trouve *E. coli*, *Shigella* et *S. aureus* (**Mandell, 2009 ; Yamashita, 2000 ; Pitout, 2004**).

**ETUDE**  
**EXPERIMENTALE**

1. Objectif de l'étude :

L'objectif de notre étude consiste à l'isolement, l'identification des souches *S aureus* chez les bovins à partir de lait puis à la mise en évidence de l'antibiorésistance de ces dernières vis-à-vis de 12 molécules d'antibiotiques, parmi les plus utilisées en médecines vétérinaires.

2. Cadre de l'étude :

Notre étude a été réalisée dans la région de Berrouaghia et leurs environs communs (Berrouaghia, Robia, Benchikaw, Tizi el Mehdi, M'hadjbiya) situés au centre de la wilaya de Médéa en Algérie.

3. Matériel et Méthodes :

3.1 Matériel :

3.1.1 Biologique :

Il s'agit de 26 prélèvements de lait provenant de 26 vaches suspectes atteintes de mammites subcliniques.

3.1.2 Non Biologique :

L'ensemble des réactifs, consommables, milieux de culture et appareils sont présentés dans l'annexe n°2.

3.2 Méthodes :

Pour atteindre nos objectifs, nous avons fait un stage deux mois (décembre 2019 jusqu'à février 2020) durant lequel nous avons intégrés l'équipe du laboratoire de l'établissement publics hospitalière de Berrouaghia.

3.2.1 Prélèvements :

Les prélèvements ont été effectués chez des éleveurs qui étaient joignables au moment de la récolte et qui ont bien voulu participer à ce travail, sur des animaux présent à l'intérieure de l'étable.

Les prélèvements des échantillons de lait des vaches ont été effectués au cours de plusieurs visites dans les régions déjà citées. En moyenne chaque 2 à 3 jours, nous programmions une sortie à destination d'une région.

Devant la difficulté d'effectuer un échantillonnage en cas d'une mammite subclinique qui est asymptomatique, on a distribué des pots stériles sur des vétérinaires de la zone, qui à leur tour nous ont aidés. Nous nous sommes résignés à faire un échantillonnage sur des vaches suspectes malades de mammite subclinique. À partir de chaque quartier, aux environs de 10 ml du lait

mammiteux ont été prélevés dans des pots stériles en respectant certaines conditions d'asepsie pour éviter que le lait soit contaminé. Ces prélèvements sont acheminés au laboratoire sous froid dans une glacière et analysés après un délai maximal de 2 à 4h après leur récolte (**Ergun, 2009**).

### 3.2.2 Isolement des *S.aureus*

Les prélèvements sont acheminés sous froid vers le laboratoire de bactériologie de l'établissement public hospitalière de Berrouaghia.

Au niveau de ce dernier on a effectué l'isolement pour rechercher les *souches de S. aureus* ainsi que l'étude de leurs résistances aux antibiotiques.

#### 3.2.2.1 Préparation et ensemencement du milieu de culture :

Le milieu Chapman est le milieu sélectif des bactéries du genre *Staphylococcus* (**Bact, 1944**).

La préparation de milieu se fait comme suite :

- Homogénéiser la gélose Chapman déshydratée contenue dans le flacon.
- Mettre 111 grammes de milieu dans un litre d'eau distillée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes avant de couler le milieu dans les boites de pétri (**J.Bact.1944**).

#### 3.2.2.2 Ensemencement :

Après homogénéisation, nous avons prélevé à partir de chaque pot de prélèvement de lait, une goutte à l'aide d'une pipette pasteur stérilisée.

L'ensemencement se fait à sur le milieu Chapman avec des stries très rapprochés. Les différentes boîtes ensemencées sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures (**London.1989**).

Les colonies caractéristiques de Staphylocoques sont jaunes ou blanches sur ce milieu.



**Figure 1:** Milieu Chapmanensemencé après 24h d'incubation (photos personnelles).

### 3.2.3 Purification et conservation :

Les colonies caractéristiques de *Staphylococcus aureus* (trois colonies) sont prélevées de chaque boîte du milieu Chapman puis purifiées (**London ,1989**).

Chaque colonie pure (correspondante à chaque prélèvement) est conservée dans un eppendorf contenant du glycérol à -18°C en vue d'une éventuelle identification.

### 3.2.4 Identification :

La galerie API 20S est un système standardisé pour l'identification des bactéries selon les caractères biochimiques. Elle comporte 20 micros tubes contenant des substrats déshydratés. Les micros tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (**KLOOS ET WOLFSOHL ,1982**)

Au cours de notre stage pratique, l'identification des germes en question devait se faire par utilisation de la galerie API 20S, mais vu les conditions sanitaires dû au Covid-19, on s'est retrouvé dans l'incapacité de gérer cette partie.

### 3.2.5 Antibiogramme

#### 3.2.5.1 Principe

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante (**Arsia, 2009**).

### 3.2.5.2 Milieu

La gélose de Mueller Hinton est un milieu de base qui permet la réalisation de l'antibiogramme standard. Elle est coulée en boîtes de Pétri. La surface de la gélose est séchée pendant 15 minutes à 37°C (Arsia, 2009).

### 3.2.5.3 Inoculum

L'inoculum est préparé à l'aide de 3 à 5 colonies isolées et prélevées puis mises dans un tube qui contient du bouillon nutritif. Ce dernier est étuvé pendant 30 min puis une goutte d'inoculum est homogénéisée dans un tube contenant de l'eau physiologique (Arsia, 2009)

### 3.2.5.4 Ensemencement

L'ensemencement se fait par écouvillonnage (méthode de Kirby) : le milieu est ensemencé par stries très serrées en 3 passages en faisant pivoter de 60° (Arsia, 2009).

### 3.2.5.5 Application des disques d'antibiotiques

Au total 12 antibiotiques ont été testés, parmi les plus utilisés en élevage bovin, et selon les listes d'antibiotiques recommandées pour la surveillance des pathogènes vétérinaires, ce sont :

**AMC** : amoxicilline+acide clavulanique, **AM** : ampicilline, **Pénicilline G**, **E** : Erythromycine, **Li** : Lincomycine, **FOS** : Fosfomycine, **En** : Enrofloxacin, **Rifax** : Rifaximine, **GEN** : gentamycine, **TE** : tétracycline, **STX** : Triméthoprime+sulfamides et **FA** : acide fusidique. Les disques d'antibiotiques sont déposés sur la gélose avec une pince métallique stérile. Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90mm de diamètre. Les boîtes sont incubées 24 h à 37°C (Arsia, 2009).



**Figure 2** : (à gauche) : Appareil des disques d'antibiotiques. (À droite) : boîte de pétri avec milieu gélose Muller Hinton (photos personnelles)

3.2.5.6 Lecture

La lecture doit se faire dans les délais de 18 à 24 heures pour la méthode par diffusion. La zone d'inhibition circulaire est mesurée par le diamètre en millimètres selon divers moyens (règle, compas ou pied à coulisse) (**Arsia, 2009**)

Les diamètres des zones d'inhibition des 12 antibiotiques testés ont été mesurés et interprétés selon les recommandations de l'EUCAST, 2017 présentes dans **l'annexe n°3**

Le pourcentage de résistance vis-à-vis des antibiotiques est calculé selon la formule suivant

$$\text{Pourcentage de résistance} = \frac{\text{nbre des souches résistantes} * 100}{\text{la totallité des souches isolées}}$$



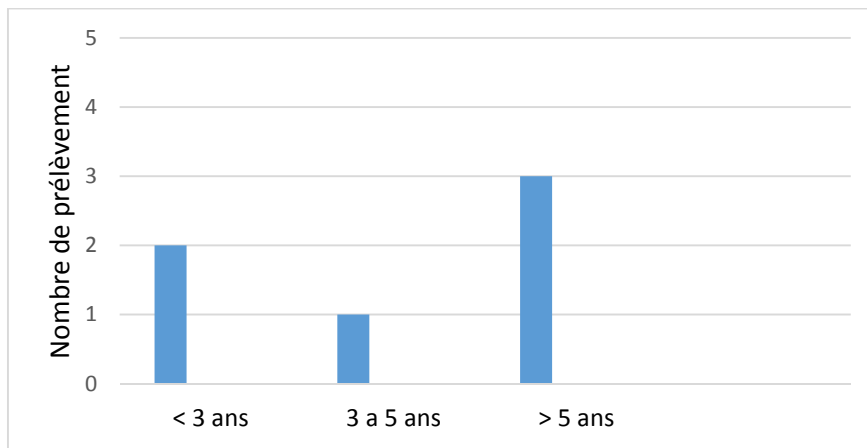
4. RESULTATS :

4.1 Prélèvements :

Au total, 26 prélèvements ont été réalisés à partir de lait des vaches. Sur les 26 vaches suspectes atteintes d'une mammite subclinique, 6 prélèvements ont présenté une culture positive envers les souches de *Staphylococcus aureus* avec un pourcentage de 23%, et les 20 prélèvements restants ont présenté une culture négative avec un pourcentage de 77%.

4.2 Distribution des prélèvements en fonction d'âge :

Les prélèvements sont pratiqués au hasard chez des sujets d'âges différents. Le nombre de prélèvements positifs par tranche d'âge est réparti inégalement avec un nombre plus élevé pour la tranche d'âge (>5 ans) suivi par la tranche d'âge (< 3 ans) et un nombre négligeable pour la tranche d'âge (3 à 5 ans). Le nombre de prélèvements positifs par tranche d'âge est présenté dans l'annexe n°04 et illustré dans la figure 03.

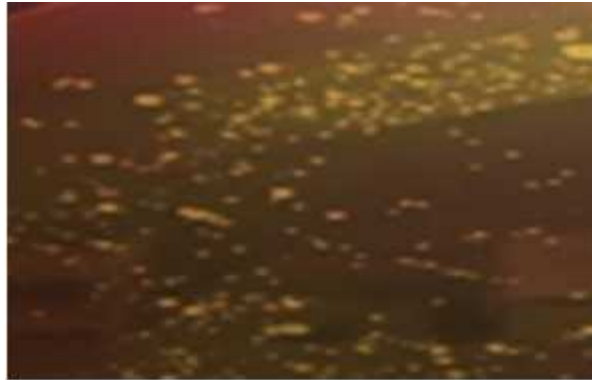


**Figure 03** : Distribution des prélèvements positifs en fonction de l'âge.

4.3 Examen bactériologique :

A partir des 26 prélèvements réalisés, 6 ont présenté une culture positive envers les souches des *Staphylocoques aureus*. Les souches de staphylocoques aureus sont isolées, purifiées et identifiées grâce à leurs caractères morphologiques et biochimiques.

Sur milieu Chapman, les colonies *Staph* sont apparues rondes, lisses, bombés et bien limités (halo circulaire de 1 mm de diamètre, de couleur jaune dorée), comme le montre la figure ci-dessous.



**Figure 04** : Colonies des staphylocoques jaunâtres dorées après incubation  
(Photos personnelles)

#### 4.4 Résultats de l'antibiogramme :

Les diamètres des zones d'inhibition provoquées par les antibiotiques utilisés sont présentés dans le tableau n°04.

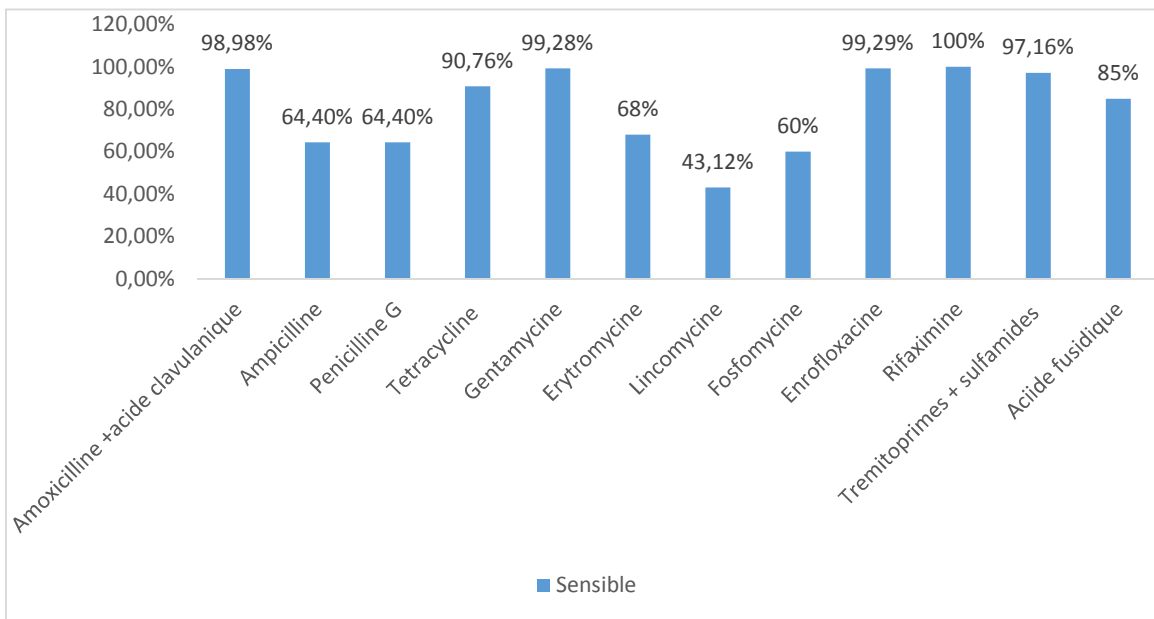
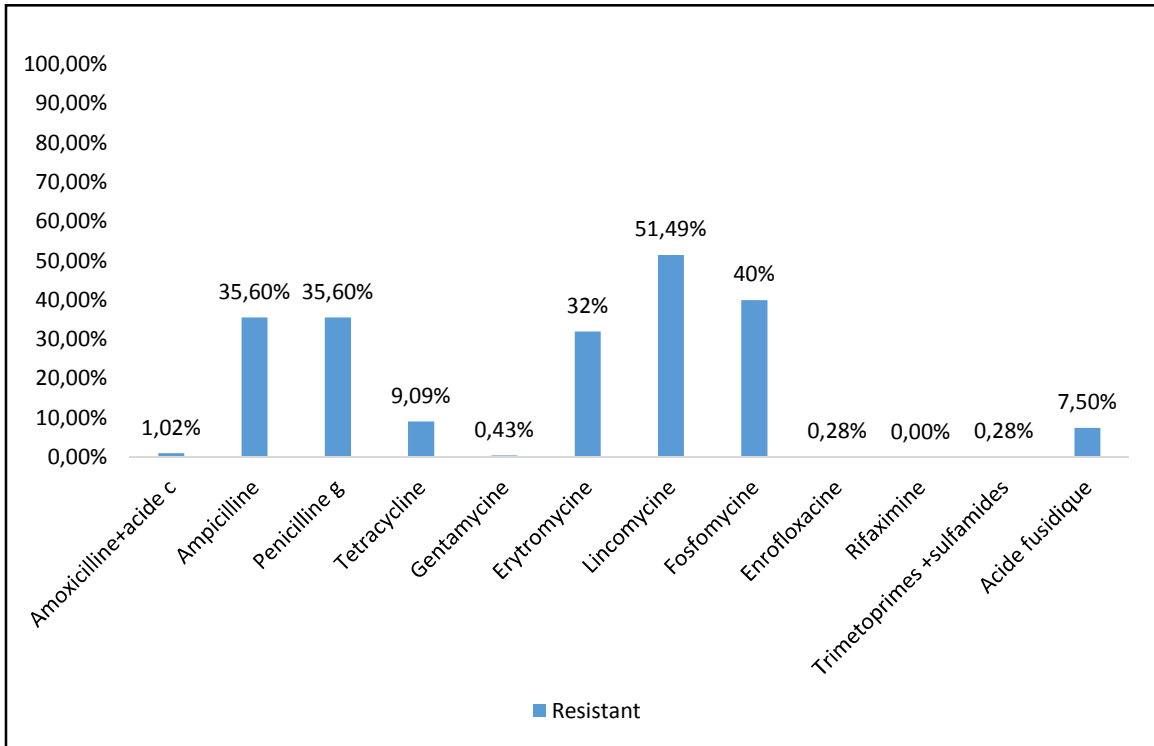


**Figure 05** : Zones d'inhibition provoquées par les antibiotiques.

**Tableau 04** : Diamètres des zones d'inhibition provoquées par les antibiotiques (mm).

| Antibiotiques                     | Abréviations | S(01) | S(02) | S(03) | S(04) | S(05) | S(06) |
|-----------------------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Amoxicilline+ acide clavulanique. | AMC          | 35    | 40    | 31    | 40    | 34    | 38    |
| Ampicilline                       | AM           | 22    | 21    | 24    | 20    | 23    | 24    |
| Pénicilline G                     | Péni G       | 35    | 40    | 40    | 40    | 34    | 38    |
| Tétracycline                      | TE           | 31    | 29    | 31    | 29    | 40    | 35    |
| Gentamycine                       | GEN          | 23    | 25    | 28    | 25    | 25    | 26    |
| Érythromycine                     | E            | 31    | 29    | 41    | 29    | 40    | 35    |
| Lincomycine                       | LI           | 21    | 22    | 28    | 23    | 23    | 21    |
| Fosfomycine                       | FOS          | 27    | 29    | 36    | 26    | 31    | 30    |
| Enrofloxacin                      | En           | 31    | 26    | 32    | 25    | 32    | 29    |
| Rifaximine                        | Rifax        | 36    | 38    | 38    | 38    | 35    | 33    |
| Trimetoprime+ Sulfamides          | STX          | 33    | 31    | 34    | 31    | 35    | 34    |
| Acide fusidique                   | FA           | 34    | 33    | 39    | 40    | 37    | 36    |

Les pourcentages de la résistance des 6 souches vis-à-vis les 12 antibiotiques sont présentés dans l'annexe n°05 et illustrés dans la figure 6 et la figure 7.



**Figure 06** : Histogrammes des pourcentages des souches sensibles et résistantes.

Les résultats que nous avons obtenus sur les résistances aux antibiotiques des souches peuvent être classés en trois groupes :

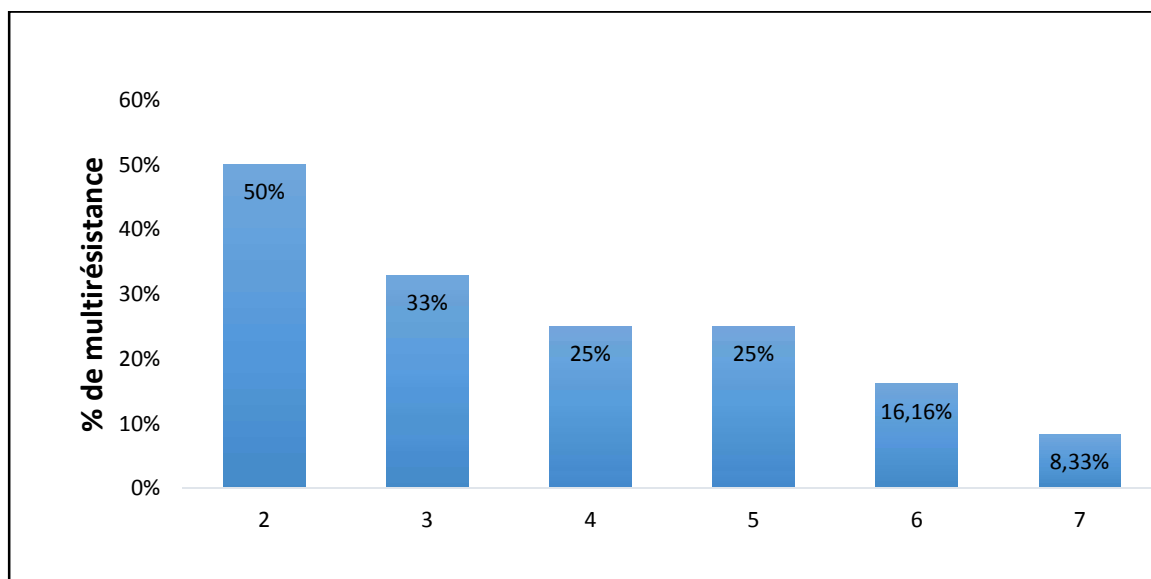
**Groupe 1** : comprend des antibiotiques pour les quels des taux élevés de résistance sont observés, il s'agit de Lincomycine 51.49 %.

**Groupe 2** : comprend des antibiotiques pour lesquels des taux moyens de résistance sont observés, Ampicilline 35.60%, Pénicilline G 35.60 %, Érythromycine 32 %, Fosfomycine 40%.

**Groupe 3** : comprend des antibiotiques pour lesquels des taux bas de résistance sont observés : Tétracyclines 9.09%, Enrofloxacin 0.28%, Trimetoprime+sulfamides 0.28%, Gentamycine 0.43%.Acide fusidique (1-15%).

Rifaximine est l'antibiotique pour lequel, il n'y avait pas de résistances.

La multi résistance apparait comme un véritable problème, car 50% des souches sont résistantes à au moins deux antibiotiques, et 25% des souches sont résistants à 5 antibiotiques (voir la figure 07).



**Figure 07** : Pourcentage des multirésistances des staphylocoques.

## **DISCUSSION :**

Sur les 26 prélèvements qu'on a réalisés à partir de lait de vache provenant des déférents bovins, 6 parmi eux ont présenté une culture positive envers les staphylocoques et 20 ont présenté une culture négative.

Le nombre de prélèvements positif est réparti inégalement en fonction de l'âge avec un nombre plus élevé pour la tranche d'âge (+5 ans) suivi par la tranche d'âge (3 à 5 ans) et un nombre négligeable pour la tranche d'âge (-3 ans). Cela peut être expliqué par le fait que le nombre de sujet de mois de 1 an rencontré sur le terrain est réduit.

Dans notre étude, un pourcentage d'isolement de 23,07% a été obtenu pour les souches de *Staphylococcus aureus*. Le taux enregistré dans notre étude est faible par rapport à celui obtenu au Niger par **Bada-Alamedji et al (2014)** qui est de 38,63% et par rapport à celui obtenu par **Benhamed et al, (2014)** 38,98% dans la région d'Oran. **Giannechini et al (2002)** ont enregistré un pourcentage d'isolement de *Staphylococcus aureus* de 62,8% à l'Uruguay. Un taux de 54, 4% a été rapporté dans le Sud de l'Ethiopie par **Abebe., et al (2016)**.

En ce qui concerne l'antibiogramme, les six souches isolées dans notre étude sont sensibles à tous les antibiotiques testés. Il est difficile de faire une comparaison des résultats obtenus des différents travaux car les techniques utilisées diffèrent d'une étude à une autre ainsi que l'interprétation des résultats. Cependant un taux de résistance de 100% des *Staphylococcus aureus* à la Pénicilline G été rapporté par **Saidi** dans le centre Algérien en 2014. **Turutoglu et al (2005)** ont enregistré en Turquie un taux de résistance des *Staphylococcus aureus* à la Pénicilline G de 61,1% et de 56,3% à la Gentamycine.

**Benhamed et al.,** en 2011 ont isolé des souches de *Staphylococcus aureus* qui sont toutes sensibles à la méthicilline par le test à l'oxacilline, ce résultat est identique à celui obtenu dans notre étude.

### **L'antibiorésistance :**

Les taux de résistance ou de sensibilité à un antibiotique, (ou pourcentage de souches résistantes à cet antibiotique) ou de sensibilité à un antibiotique sont très variables d'une molécule à une autre.

Les résistances individuelles seront discutées par familles d'antibiotiques :

❖ **LINCOSAMIDES :**

Dans notre étude, la Lincomycine étant l'antibiotique qui présente le plus de résistances (51.49%). C'est un antibiotique couramment employé et d'une manière abusive. Ajouté à cela, la mauvaise manipulation, car les vétérinaires laissent, parfois, à l'éleveur le soin d'administrer lui-même le médicament ou parfois même l'éleveur achète, directement, l'antibiotique sans prendre l'avis du vétérinaire. L'administration d'un traitement par l'éleveur, peut conduire à un mauvais suivi de la prescription du clinicien. La dose à administrer dépend souvent du poids de l'animal : il est évident que tous les éleveurs ne disposent pas d'une balance dans leur stabulation, leur permettant de peser l'animal à traiter avant d'entamer un traitement antibiotique. Ce qui peut conduire à des erreurs d'appréciation du poids et donc à des surdosages ou plus fréquemment des sous-dosages. Le sous-dosage est notamment à l'origine de la sélection de germes résistants aux antibiotiques **(AFSSA, 2006)** cité par Chatelet **(Chatellet., 2007)**

❖ **β-lactamines :**

Le taux de résistance retrouvé dans notre étude envers l'amoxicilline + acide clavulanique est de 35.60% ainsi que le taux de résistance envers l'ampicilline est également le même 35.60%. Ces résultats sont très proches à ceux de **(L'Arsia de 2005 à 2009)**.

Divers mécanismes de résistance des *Staphylocoques aureus*, envers les molécules de cette famille sont décrits. L'imperméabilité et l'excrétion de l'antibiotique par efflux sont ceux qui concernent probablement la résistance envers l'Amoxicilline+ acide clavulanique, car la résistance par production de β-lactamases n'est pas plausible pour cette molécule, elle l'est par contre pour la résistance à l'ampicilline.

❖ **Sulfamide-triméthoprimé :**

Le taux de résistance des souches isolées envers l'association sulfamide- triméthoprimé dans notre étude de 0,28% est plus faible que celui rapporté par **(L'Arsia de 2005 à 2009)**. Cette association est très utilisée en médecine vétérinaire notamment pour le traitement des cocci, ce qui pourrait expliquer le taux de résistance.

❖ **Quinolones et dérivés :**

Le taux de résistance des souches en question à la Gentamycine dans notre étude est de l'ordre de 0.43%. Nos résultats concordent ceux de l'étude de l'antibiogramme des germes staphylocoques de mammites bovines isolées au laboratoire réalisée par **( L'Arsia de 2005 2009)** à qui signalent l'existence d'une montée de la résistance vis-à-vis de cet antibiotique et la

présence d'une sensibilité envers cet antibiotique qui est imputée. Cela est peut être dû à son non utilisation par les praticiens vétérinaires et de l'emploi le plus souvent d'autres antibiotiques (colistine, gentamicine et l'ampicilline).

Cependant, nos résultats montrent une grande sensibilité des souches envers l'enrofloxacin avec un taux de 99.29% qui concorde avec les résultats de **(L'Arsia de 2005 à 2009)**.

❖ **FOSFOMYCINE :**

Le taux de résistance des souches envers le Fosfomycine de 40%. Ce résultat rejoint celui rapporté par **(L'Arsia de 2005 à 2009)**.

❖ **Acide Fusidique :**

Pour l'acide fusidique qui est un antibiotique appartenant à la famille des Fusidanes, présente un taux de résistances faible avec un taux de sensibilité de (85%). Nos résultats concordent ceux de **(L'Arsia de 2005 à 2009)**

❖ **Rifaximine :**

La Rifaximine est l'antibiotique qui présente le plus faible taux de résistance (0,00%). Nos résultats sont proches à ceux rapportés par les études de (L'Arsia de 2005 à 2009). La résistance de la bactérie à la Rifaximine n'est pas commune et est même exceptionnelle. Elle est de type chromosomique, donc la mutation est rare. D'autre part, les études effectuées montrent que cette résistance est adaptative ou phénotypique et réversible : elle correspond à une altération de l'architecture de la paroi bactérienne. En outre, elle est d'apparition lente **(MAURE, 1986)**.

Le faible taux de résistance (absence de résistance dans notre étude) à la Rifaximine ne doit pas masquer l'émergence actuelle, en France et dans de nombreux autres pays, d'une résistance due à un nouveau mécanisme (gène mcr-1) **(Webb HE, 2016)**. Cependant, l'Agence Européenne du Médicament (EMA) ne recommande pas encore d'inclure la Rifaximine dans la liste des antibiotiques critiques.

La fréquence de l'antibiorésistance chez les *Staphylococcus aureus* d'origine bovine est très élevée. Les taux de multi résistance sont alarmants, car toutes les souches sont résistantes à au moins 2 antibiotiques. Nos résultats concordent avec les études réalisées par **(L'Arsia de 2005 à 2009)**.

Les plasmides de résistance aux antibiotiques, expliquent une grande partie des multi résistances chez *Staphylococcus aureus*. Un nombre très élevé de plasmides codant pour des



résistances multiples sont rencontrés chez cette souche, et l'émergence de nouvelles multirésistances est favorisée par la mobilité des plasmides entre les différentes espèces des autres bactéries. Les plasmides peuvent être regroupés en familles, Il convient donc de rester prudent quant aux conclusions à tirer de ces analyses. Cependant, des molécules critiques étant concernées, il est essentiel d'adapter les pratiques en matière d'antibiothérapie, afin de limiter le développement de ces résistances. Comme l'ont montré **(Kaneene et al. 2009)**, la diminution de l'utilisation préventive d'antibiotique ou du traitement, s'accompagne d'une réduction de la fréquence des multirésistances. Bien que cet effet ne soit pas durable et que d'autres facteurs interviennent, cette réduction constitue une première mesure indispensable.

La non réalisation des antibiogrammes d'orientations, implique la multiplication de ces pratiques et ainsi au développement des gènes de résistance. Elle conduit aussi au phénomène de Co-résistance, engendrant le développement de véritables clones résistants à de nombreux antibiotiques.

Les antibiotiques les plus utilisés en médecine vétérinaire forment les antibiotypes les plus importants dans notre étude, ceci, pourrait être responsable des échecs thérapeutiques lors de cocci, mais pas seulement, car en médecine humaine, les problèmes de résistance posent un énorme problème. En effet, les résistances des staphylocoques en milieu hospitalier, est de l'ordre de 20 à 50 % envers l'ampicilline et aussi envers sulfaméthoxazole triméthoprim (institut pasteur). La flore commensale, joue également un rôle clé, comme accepteur et donneur, dans la transmission des mécanismes de résistance. Une étude réalisée par **(YOLANDA et al)**, en Espagne, montre une grande variété de gènes de résistance chez les souches de *Staphylococcus aureus* multi résistantes et non pathogènes provenant de l'homme, des animaux et des produits de consommation. En plus, l'inclusion de quelques gènes de résistance à des intégrons, constitue un moyen efficace pour la dissémination de l'antibiorésistance. Des changements dans les acides aminés **(MarR)** et du promoteur **(marO)** contribuent probablement dans le phénotype de la multi résistance **(Yolanda Saenz, 2004)**. La bactérie staphylocoques, peut transmettre la résistance d'une part, aux autres espèces par transfert de son matériel génétique, et d'autre part, à l'homme via la chaîne alimentaire ou par contact direct. Cette dernière voie de transmission concerne surtout les éleveurs, vétérinaires et le personnel des abattoirs. Certaines études se sont intéressées à ce transfert de résistance de l'animal à l'homme, une des premières études est celle de LEVY **(LEVY et al, 1976)** qui avait étudié le transfert des plasmides provenant

De souches résistantes de staphylocoques à la famille de l'éleveur et ceci après l'introduction de la tétracycline

## CONCLUSION :

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur pour les élevages et à la santé publique en Algérie et à travers le monde. En effet, ces dernières années, nous avons assisté à une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques à l'échelle nationale, en particulier chez les bacilles à Gram négatif. Ces derniers représentent un problème économique majeur, mais également un problème de santé publique et vétérinaire, du fait de l'émergence de résistance et des souches multi résistantes contre divers antibiotiques et qui peuvent conduire à des impasses thérapeutiques.

Les 6 souches de *Staphylococcus isolées* dans notre étude confirment le taux de mammite subclinique qui pourrait être dû à plusieurs facteurs et nos résultats confirment que la présence de ces germes dans le lait peut présenter un risque pour la santé publique.

La mammite est l'une des principales causes d'utilisation des antibiotiques au sein des élevages bovins, et la mauvaise utilisation de ces molécules et le non-respect des délais d'attente après le traitement, conduisent à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. Ces résidus représentent un risque toxicologique potentiel pour le consommateur et conduisent au développement de bactéries résistantes aux antibiotiques.

Dans notre étude l'antibiogramme montre cette émergence de la résistance contre les antibiotiques avec des taux de résistance plus ou moins élevé et des pourcentages élevé de multi résistantes. Nous constatons également, dans cette étude, que l'efficacité des antibiotiques décroît au fil du temps, les bactéries additionnent des résistances à diverses familles d'antibiotiques et deviennent des multi résistantes.

L'émergence des  $\beta$ -lactamases ou B-Lactamines à spectre élargi constitue un véritable danger rendant les souches qui les portent résistantes à de nombreuses classes d'antibiotiques

Cette résistance est très préoccupante pour les animaux ainsi que la sante publique. Les médecins, les vétérinaires doivent prendre les mesures nécessaires pour lutter contre ce problème mondial. Il ne suffit pas de réduire quantitativement la consommation d'antibiotiques mais d'en améliorer qualitativement leur utilisation, et la recherche d'alternatives aux molécules d'antibiotiques pour le traitement des infections est une pratique de plus en plus courante. À la lumière des résultats obtenus lors de cette étude, nous pensons que d'autres recherches peuvent s'orienter vers l'identification des germes par utilisation des galeries biochimiques. Ainsi, la recherche de nouvelles molécules à effet antimicrobien tel que les extraits de plantes et les huiles

essentiels constitue de bonne piste d'étude. Pour l'essai d'élaboration d'un éventuel traitement alternatif naturel, il serait nécessaire, de faire des essais comparatifs de l'effet antibactérien de quelques antibiotiques standards.

**Références**  
**bibliographiques**

## Références bibliographiques

1. **AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, (1960)** standard méthodes for the examination of the Dairy Products, 11 éd. New York
2. **ARSIA DE 2005 à 2009**: antibiogrammes des germes gramme positifs de mammites bovines isolés au laboratoire.
3. **BALABEN N, RASOOLY A. 2000**, Staphylococcal entérotoxines .Int J Food microbiol, 61, 1-10.
4. **BARABOSA ET AL, 1968**. Physico\_chemical and microbiological characteristics of goat Milk in Portugal .B.F.I.L . , n°202 : P 84 \_89.
5. **BARBER F.W (1942)** Amer. Butter rev. Juin, 206.
6. **BAREILLE NATHALIE , DJABRI BELGACEM, BEAUDEAU FRANCOIS, SEEGERS HENRI 2003**: UMR gestion de la sante Animale ENVN-INRA. Atlampole-Chantrerie. Bp40706, 44307 Nantes codex 2003
7. **BERCHE P, GAILLARD J.L, SIMONT M. 1991** bactériologie : les bactéries des infections humaines .Médecine –science –Flammarion. Paris ; 1991 :pp336-360.
8. **Benoit Durieux 2020** : Source de contamination des mamelles et facteurs de risques. Loire Conseil Elevage pour le groupe qualites du lait FIDCOL
9. **BLOOD C, HENDERSON J.A, 1976** : médecine vétérinaire. Edition vigot frères (paris) ,1100 pages.
10. **BOUCHARDE, 2003**. Cours de pathologie mammaire, faculté de médecine vétérinaire de Montréal, 11, 15-20
11. **BOURGEOIS C.M, MESCLE J.F, ZUCCA, 1996** J.tome 1 : aspect microbiologique de la sécurité alimentaire et de la qualité des aliments ; in : Lavoisier tec & doc (ED), microbiologie alimentaire, , 106-119.
- 12., **LAFARGE V, BROUILLAUD A, DE BYSER M.L, COLLETTE C, GARIN-BASTUJI B, THOREL M.F. 1997** les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe.- rev. Sci. Tech. Off. Int.epiz., 1997, 16, 2, 452-471.
13. **BYLUND GOSTA, 2000**. Handbook-of-dairy-processing. Editor : teknotext AB illustrations : origrit AB .pp 20-45, 60-75, 87-120

- 14. CENTRE BRISABOIS A D'ENSEIGNEMENT LAITIER PAR CORRESPONDANCE. 2000** Qu'est-ce que le lait ? Ecole Nationale D'Industrie laitière et des industries AGRO-ALIMENTAIRE. Surgères : 99-2000. 61p
- 15. CHAUBEAU – DUFFOUR C 1992** : Toxie –infection alimentaire d'origine staphylococcique. –le point vétérinaire, 1992, 24, 148, 33-40
- 16. COLLECTION FAO , 1998** : Alimentation et nutrition n° 28 / 1998. Food, agriculture and the environment discussion paper N° 28. Washington, institut international de recherche and nutrition. Collection FAO : alimentation et nutrition n°83. Rome, FAO. Mekong team working paper N° 12. HPAI pro-poor Risk Reduction, steinfeld, H 1998. Livestock production in Asia.
- 17. CUCARELLA C, TORMO MA, UBEDA C, TROTONDA MP, MONZON M, PERIS C, AMORENA B, LASA 1, PENADES JR (2004)**: Rôle of biofilm-associated protein bap in the pathogenesis of bovine staphylococcus aureus. Infect Immun.2004 APR ; 72(4) : 2177-85.
- 18. CHESTIAN JEAN-PIERRE ,1999.** Elevage de la vache laitière en zone tropicale, CIRAD, p314.
- 19. CORONEL A (2005)** : la propreté, indicateur des conditions d'hygiène élevage jura agricole et rural publié le : 05 aout 2005 pages.
- 20. DAVID V. et FORTE R. 1992** guide nationale des bonnes pratiques en production fromagère fermière.2e éd. Paris : institut de l'élevage, fiche I, 15-19.
- 21. DE BUYSER M.L, JANIN F, DILASSER F. 1985.** contamination of éwé cheese with staphylococcus aureus : study of an outbreak of Food poisoning. In : JELJASZEWICZ, j. (ED), The Staphylococci, zbl bakt suppl.14gustav Fischer verlag, stuttgart, New York,
- 22. DE BUYSER M.L, LAPEYRE C 1994,** : mammites à staphylocoques et sécurité alimentaire. Le point vétérinaire, 26, numéro spécial << ruminants et santé publique>>, 79-82.
- 23. DE BUYSER M.L 1996:** les staphylocoques coagulase-positifs.- In : Lavoisier (ED), Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaire, chapitre 6, , 305-312
- 24. DE BUYSER M.L, LAPETRE C, DILASSER F. 1997** le point sur les TIAC à staphylocoque : foyers déclarés et résultats de l'analyse d'aliment suspects.\_ Coll. Soc. Microbiol. /Alim. Vol 11, , 7-16.
- 25. DURET L, FAROULT B, LEPOUTRE D, BROUILLET P, LE PAGE PH 2004.**: mammites des bovins (cliniques st subcliniques). Démarche diagnostiques et thérapeutique. La dépêche Technique. Supplément technique 87 à la dépêche vétérinaire du 20 décembre 2003 au 2 janvier 39p.

- 26. EICHER R, SUTTER-LUTZ B, GERBER L., 2002** : les mammites subcliniques dans les troupeaux laitiers. Contrôler les mammites à staphylococcus aureus. Le pont vétérinaire, N 228, 50-54.
- 27 .Ergun 2009** : page 70 , chapitre 2, matériels et méthodes et l'identification des bactéries-IRSST.
- 28. FABRE J.M, BERTHELOT X, BOUSQUETE, LAUMONNER G et SEEGERS H, 1999** : Traitement des mammites subclinique en lactation. Bulletin des GTV, N01, 49-56.
- 29. FRANCOIS M, 1986**, lait et produits (vaches, brebis et chèvres), pages 23.
- 30. FRANCOIS VAN BENBEKE D.S (2007-2008)** « pharmacologie et pharmacothérapie »
- 31. GEDILAGHINE V,2005**. la rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière. Conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action G.T.V. Partenaire dans le département de la manche. Thèse pour le doctorat vétérinaire, maisons Alfort,106 p.
- 32. GOURREAU J.M. 1995** : les staphylococcies. In France agricole(Editeur), accidents et maladies su trayon, , 135.
- 33. GOURDAUD J ,1985**: composition et propriétés physico-chimiques. In : LUQUET, F.M. Laites et produits laitiers. 1ère éd. Paris : Technique et documentation Lavoisier,.vol 1, chap1, 1-90.
- 34. GUERIN A, 2003**. Mise en place d'une démarche de rationalisation du traitement des mammites des vaches laitières. Description des pratiques des éleveurs et des vétérinaires à la mise en place de l'action GTV partenaire en région Rhône-Alpes. Thèse Méd. Vét, Nantes, 2003.
- 35. HEAGHEBAERT S, LE QURREC F, GALLAY A. et AL, 1999 et 2000** : les toxi-infections alimentaires collectives en France, en.- BEH, juin, 23, 105-109.
- 36. HAMAMA A, 2002** : <<hygiène et prophylaxie dans les étables laitière. Cours de formation des techniques do l'office régionale de mis en valeur agricole L'haouz.marrkech>> Pp 10-25,62-71,80-110.
- 37.HA NAK E, BOUTRIF E, FABRE P, PINEIRO M, 2002** (éditeurs scientifiques ).. gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, CIRAD-FAO, 11-13 décembre 200, Montpellier, France.
- 38.HANZEN C ,(2009-2010)** :La pathologie infectieuse de la glande mammaire Etiopathogenie et traitement approche individuelle et de troupeaux, cours en ligne.

- 39. HANZEN CH, CASTAIGNE J, LOUP.2002.** Faculté de médecine vétérinaire. Université de liège, chapitre 30 : pathologie infectieuse de la glande mammaire, dernière mise à jour : 02/02/2002  
site web : [www.fmv.ulg.ac.be/oga/index](http://www.fmv.ulg.ac.be/oga/index).
- 40. HEDOUIN C (2003)** : institut de l'élevage ; produire un lait de qualité passe par une propreté exemplaire de la salle de traite et de la laitière. ([www.instelevage.asso.fr](http://www.instelevage.asso.fr)).
- 41. JEAN DUVAL 1967:** Decades of experience, Leading Brand of Grain Silo Sources Proceedings of a seminar on agricultural Buildings,As,Norvege,Section pages 118 a 124.
- 42.J.BACTERIOLOGIE, 1944:**CHAPMAN GH.The isolation of pathogenic staphylococci from feces Feb 47(2):405-406(pm-Free article)(pubMed)(Google scholar)
- 43. JOHNS C K (1953)** : In : proc. INT. Dairy conger, la haye, 2,241.
- 45. JOHNS C K (1955)** : canad.dairy J., 34, N° 1,35.
- 46. LACASSE P, 2007** : cours sur la biologie de la lactation. Département des biologies université de Sherbrooke : [http //www.callisto.Si.Usherb.ca](http://www.callisto.Si.Usherb.ca).
- 47. LARPENT JP (1997)** : microbiologie alimentaire (technique laboratoire) TEC et DOC Lavoisier paris ; p1073.
- 48. LARPENT J.P. 1996** lait et produits laitiers non fermentés. In : BOURGEOIS, C.M. et MESCLE, J.F et ZUCCA, J : microbiologie alimentaire. 2e éd. Paris : technique et documentation Lavoisier,271-293.
- 49.Mandell GLB. J(2009)** :Douglas and Bennettsprincipale paractice of infection diseases 6 edition,Elsevier, cherchill Livingstone editions, USA ,edition en ligne .<http://WWW.PPIid online.com>.
- 50.MARIE. France BOUISSON.Y , VASELET, 1965** :Non renseigne ,observation sur la Hiearache sociale chez les bovines domestiques .Annales de biologie animale,biochimie,biologiques ,(3) . PP. 327-339.
- 51.MURTHY R.2001** : Implantation of strategies to control antimicrobial,chest 2001 ;119(suppl2)405,11.
- 52. MEYRAND A, ATRACHE V, BAVAI C. et al, 1999:** évaluation of an alternative extraction procédure for enterotoxine détermination in dairy products, jan, 28, 6,411-415.



- 53. MIALOT J-P, 1983.** Technique de prélèvement de lait pour examen bactériologique. Rec. Med .vét 153, (11), 1058. Microbiological Methods.collins CH. .6 Edition. Buttenoths.LONDON 1989.
- 54. MILOJEVIC Z, SIRADOVIC D, MAROVIC D, SANDO R, MICIC S, KOJEVIC M, ISMAILOVIC S, FILIPOVIC.1988.** Effect of various management systems on udder infections and the occurrence of mastitis.18(2) :231-236.
- 55.MOHAMMEDI, 2001:**Classification et mode d'action des antibiotiques. D.MOHAMMEDI-sante. Dz. n91 :p5-12.webographie.
- 56.ORDEN J.A CID D, BLANCO M.F et AL ,1992:** enterotoxine and toxic shock syndrome toxin production by Staphylococci isolated from mastitis in sheep.- APMIS feb ,100, 2, 132-134.
- 57. ORDEN J.A, GOYACHE J, HERNANDEZ J .Et AL. 1992** Production of Staphylococcal enterotoxines and TSST\_1 by coagulase négative Staphylococci isolated from ruminant mastitis. Zentralbel vétérinaire, mar, 39,2, 144-148.45. ORDEN J.A GOYACHE J, HERNANDEZ J, ET AL : détection of enterotoxine and TSST -1. Secreted by staphylococcus aureus isolated from ruminant mastitis. Comparaison of ELISA and immunoblot, j appl bacteriol, june, 72, 6,486-489.
- 58. PIRISI A, 1994.** Composition et coagulation du lait de brebis. Lait, page 425.442.
- 59. POPPOFF M.R enterotoxine bactériennes, 1996** : structure mode d'action et approche vaccinale.- revue médecine vétérinaire, 147 ,6 425-438.
- 60. REKARTOZANDRINDRAINY R et FOUCRAS G, 2007.** Etiologie bactérienne des mammites des vaches laitières du triangle laitier des hautes terres de Madagascar. Revue méd. Vét 158,02, 106-110.
- 61. ROBERSON J.R FOX L.K., HANCOCK D, et AL, 1994** ecology of staphylococcus aureus isolated from various sites on dairy farms. J dairy sci, , 77,3354-3364.
- 62. SALAT O, LHERMIE G, BASTIEN J, 2007** Démarche pratique de traitement des infections mammaires à staphylocoques aureus. Journées nationale des GTV Nantes: 783-794.
- 63.YAMASHITA SKLM(2000)** : Microbiologiczl Surveillanceand parenteral antibiotic Use in criticalcare Unit.can infect Dis.
- 64. SCOTTD.W, GOURREAU J.M. 1991**la folliculite et la furonculose staphylococciques des bovins.- le point vétérinaire, , 23, 138,407-410.
- 65. SINGH E, 1972** a study on the nitrogen distribution in goat's milk. Milch wess enschaft, p167-167.

- 66. SU Y.C, LEE WONG A.C. 1997**, current perspective on detection of staphylococcal enterotoxins. - Food protection magazine, 60,2 ,195-202.
- 67. VAMONDE, ADKINSON, 1989**: Somatic Cell Count Score associated With Clinical mastitis, number of antibiotic treatments and duration of clinical episode in single and multiple trait-selected lines of Holstein cattle. Journal of Dairy Science, 724(Suppl.1)85-86.
- 68. VAN DE LEEMPUT E , 2007**: analyse bactériologique du lait. Conférence organisée par le laboratoire Pfizer pour les vétérinaires en exercice, Nantes, Mai 2007.
- 69.ABEBE R, HATIYA G, ABERA M, MEGERSA B, ASMARE K, (2016)**. Bovine mastitis : prevalence, risk factor and isolation of Staphylococcus aureus in dairy herds atHawassa milk shed, South Ethiopia. BMC Veterinary Research (2016) 12:270 DOI10.1186/s12917-016-0905-3
- 70. BENHAMED N, (2014)**. Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru dans la région d’Oran Algérie : Etude du profil moléculaire virulent des Staphylococcus aureusimpliqués dans les mammites bovines. Thèse de doctorat de 3ème cycle. Université d’Oran
- 71. TURUTOGLU H, ERCELIK S et OZTURK D, (2006)**. Antibiotic resistance of staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis. Bull Vet Inst Pulawy 50, 41-45, 2006
- 72. AFSSA, 2006**,. Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. In : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, Site de l’Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. [enligne], Janvier 2006, p. 214 [<http://www.afssa.fr/ftp/afssa/35821-35822.pdf>] date de consultation le 29-082012.
- 73.Kaneene J W. L. (2009)**. Changes in multidrug resistance of enteric bacteria following an intervention to reduce antimicrobial resistance in dairy calves. J. Clin Microbiol. 2009; 47: 4109-12.
- 74.Yolanda Saenz L. B. 2004**), « Mechanisms of Resistance in Multiple-Antibiotic-Resistant Escherichia coli Strains of Human, Animal, and Food Origins ». antimicrobial agents and chemotherapy, (Oct. p. 3996–4001.
- 75.Levy S.B F. G. (1976)**. «changes in intestinal flora of farm personnal after introduction of a tetracycline-supplemented feed on a farm» . Eng.Journ.Med. P:583-588 .

**76. WESLEY, KLOOS AND JANA , WOLFSHOHL (1982)** : identification of staphylococcus species with the API staph IDENT SYSTEM, Departemens of genetics ? north California state university , page (509 -516) Vol 16 N 3

# **LES ANNEXES**

## ANNEXE 01

Tableau : Principaux micro-organismes impliqués dans les infections mammaires, leurs caractéristiques et leur prévention (Guérin, 2007).

| <b>Espèce</b>                            | <b>Source principale</b> | <b>Milieu de vie</b>                                   | <b>Facteurs de propagation</b>   | <b>Symptômes</b>  | <b>Traitement préventif</b>   |
|--|--------------------------|--|--|---|---|
| <b><i>Streptococcus agalactiae</i></b>   | Vaches infectées         | Quartier infecté et pis seulement                      | Utilisation d'une guenille commune.                                    | Fièvre peu forte d'environ 24 heures.   | Bain de trayon après la traite réduit le problème de 50%<br>Réforme de vaches infectées.  |
| <b><i>Staphylococcus aureus</i></b>      | Vaches infectées         | Sur trayon anormal et pis, trayeuses, vagin, amygdales | Transmis par mains ou guenilles, pénètre durant la traite.             | Souvent très aiguë quelques jours après le vêlage. Peut être fatale. Le quartier enfle et devient mauve. Affecte tout le système rapidement. Dans la forme chronique, durcissement du pis, sécrétion aqueuse, atrophie éventuelle du quartier. forme intermédiaire avec sécrétion grumeleuse. lait plus chaud que normal. |   |
| <b><i>Streptococcus dysgalactiae</i></b> | Vaches infectées         | Quartier infectés, blessé.                             |  | Enflamment prononcé du ou des quartiers. Lait très anormal. Fièvre forte dans un cas grave.   |   |
| <b><i>Streptococcus uberis</i></b>       | Environnement contaminé  | Sur la peau de la vache, la bouche, le sol             | Lave-pis négligé, séchage insuffisant, manque de litière, parc boueux. | Enflamment prononcé du ou des quartiers infectés. Lait très anormal. Fièvre forte dans un cas grave<br>Affecte surtout les vaches tarées et les génisses.   | Lave-pis: La verles trayons seulement, bien sécher avec papier jetable pour chaque vache. |
| <b><i>Escherichia coli</i></b>           | Environnement contaminé  | Sol, litière (copeaux et bran de scie), fumier, eau    | Stalle de vêlage sale, manque de litière, Lave-pis inadéquat.          | Souvent très grave. Peu mener à la perte du quartier et parfois à la mort. Les sécrétions sont maigres et jaunes, Contiennent des grumeaux semblables à du son. Fièvre élevée souvent.  | Litière abondante.  |

|  |                   |                         |  |   |  |
|--|-------------------|-------------------------|--|---|--|
| <b><i>Corynebacterium pyogènes</i></b> | Certains insectes | Vallées humides, boisés |  | Réaction systémique prononcées à cause des toxines produites par la bactérie. souvent plus d'un quartier est affecté. Ils deviennent durs, donnent une sécrétion épaisse et puante semblable à du fromage est difficile à sortir. Abscesses par après qui crèvent et de déchargent un pus crémeux et perte de tissus. |  |
|--|-------------------|-------------------------|--|---|--|

## Annexe 02

### **Matériel non biologique :**

- Réfrigérateur réglable à +4c.
- Autoclave.
- Etuve.
- Stérilisateur.
- Tubes à essai.
- Anses de platine.
- Pipettes Pasteurs.
- Boites de pétri
- Ecouillons.
- Etaleur en verre stérile.
- Bec benzène.
- Glacière
- Gants.
- Vortex.
- pots de prélèvement.
- Muller Hinton.
- Glycérol.

## Annexe 03

Tableau des antibiotiques testés et l'interprétation des diamètres des zones d'inhibition (EUCAST ,2017)

| Famille                        | Diamètres de critiques (EUCAST ,2017)<br>(mm) |          |
|--------------------------------|---|----------|
|                                | (R)<br>>                                      | (S)<br>< |
| <b>B-Lactamines</b>            | 21  | 21       |
| <b>Pénicilline G</b>           | 26  | 26       |
| <b>Fluor quinolones</b>        | 21  | 21       |
| <b>Aminosides</b>              | 18  | 18       |
| <b>Rifamycines</b>             | 23  | 26       |
| <b>Lincosamides</b>            | 19  | 22       |
| <b>Trimetoprim +Sulfamides</b> | 17  | 14       |
| <b>Acide Fusidique</b>         | 24  | 24       |
| <b>Erythromycine</b>           | 21  | 18       |

## Annexe 04

Tableau : nombre de prélèvements positifs par tranche d'âge.

| Tranche d'Age        | (-3 ans) | (3 à 5 ans) | (+5 ans) |
|----------------------|----------|-------------|----------|
| <b>Nombre</b>        | 2        | 1           | 3        |
| <b>Pourcentage %</b> | 33.33%   | 16,67%      | 50%      |

## Annexe 05

Pourcentage de la résistance des souches aux antibiotiques utilisés :

| <b>ANTIBIOTIQUE</b>              | <b>SENSIBLE</b> | <b>INTERMEDIAIRE</b> | <b>RESISTANT</b> |
|----------------------------------|-----------------|----------------------|------------------|
| Amoxicilline +acide clavulanique | 98.98%          | 0.00 %               | 1.02%            |
| Ampicilline                      | 64.4%           | 0.28 %               | 35.60%           |
| Pénicilline G                    | 64.4%           | 0.00%                | 35.60%           |
| Tétracycline                     | 90.76%          | 0.14%                | 9.09%            |
| Gentamycine                      | 99.28%          | 0.28%                | 0.43%            |
| Erythromycine                    | 68%             | 0.00%%               | 32%              |
| Lincomycine                      | 43.12%          | 5.39%                | 51.49%           |
| Fosfomycine                      | 60%             | 0.00 %%              | 40%              |
| Enrofloxacin                     | 99.29%          | 2.93%                | 0.28%            |
| Rifaximine                       | 100%            | 0.00 %               | 0.00%            |
| Trimetoprime + sulfamides        | 97.16%          | 2.55%                | 0.28%            |
| Acide fusidique                  | 85%             | 0.00%                | (1-15 %)         |



