

N° d'ordre :

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE & POPULAIRE**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR & DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**



**UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES**  
**FACULTÉ DES SCIENCES DE**  
**LA NATURE ET DE LA VIE**  
**SIDI BEL ABBÈS**

# ***THESE DE DOCTORAT***

## ***EN SCIENCES***

Présentée par : Mr. BELMAMOUN Ahmed Reda

**Spécialité : Sciences biologiques**

**Option : Alimentation et nutrition humaine**

**Intitulé**

**Étude microbiologique, épidémiologique et  
antibiorésistance du Staphylococcus aureus dans le lait  
de vache atteinte de mammite.**

**Soutenue le : Décembre 2016**

**Devant le jury composé de :**

<b>Président :</b>	<b>ABOUNI Bouziane</b>	<b>Professeur</b>	<b>Université Djillali Liabes, Sidi Bel Abbes</b>
<b>Examineur :</b>	<b>SADOUD Mohamed</b>	<b>MCA</b>	<b>Université Hassiba Benbouali, Chlef</b>
<b>Examineur :</b>	<b>TERRAS Mohamed</b>	<b>MCA</b>	<b>Université Moulay Tahar, Saida</b>
<b>Directrice de thèse :</b>	<b>BEREKSI REGUIG Karima</b>	<b>Professeur</b>	<b>Université Djillali Liabes, Sidi Bel Abbes</b>

Année universitaire : 2016 -2017

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## Remerciements

Louange à *DIEU* de m'avoir accordé la santé et les moyens de réaliser ce travail.

En premier lieu, je tiens à remercier vivement madame BEREKSI-REGUIG Karima Professeur, à l'Université de Sidi-Bel-Abbès, Directrice de thèse, qui m'a honoré d'avoir accepté l'encadrement de ce travail, en étant toujours prêts à répondre à mes interrogations et à soutenir mon travail.

En témoignage de notre reconnaissance.

Je remercie vivement ...

Monsieur **ABOUNI Bouziane**, Professeur, à l'Université de Sidi-Bel-Abbès, d'accepter la présidence de notre jury de thèse, Hommages respectueux.

Monsieur **SADOUD Mohamed**, Maître de conférence, à l'Université de Chlef, qui nous a fait l'honneur d'être membre de notre jury de thèse, Sincères remerciements.

Monsieur **TERRAS Mohamed**, Maître de conférences, à l'Université de Saida, qui nous a fait l'honneur d'être membre de notre jury de thèse, Sincères remerciements.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance au Laboratoire vétérinaire régional de Tlemcen au travers de son directeur Dr Bendimered. Khatib et son ingénieure de laboratoire de bactériologie médicale madame Chekchou Nouria pour leurs accueils, qualité humaine, et les moyens de mener à bien ce travail.

Je remercie très sincèrement Mr Bouazza Sofiane pour la réalisation de l'étude statistique et la préparation de la mise en forme de manuscrit.

Je remercie très sincèrement tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réussite de ce travail.

## Dédicace

Je dédie cette thèse...

A mes Parents,  
Pour leur soutien et leurs encouragements,  
Qu'ils voient dans ce travail un aboutissement.

A mes frères et mes sœurs.

A mes Amis.

A tous les miens.

Enfin, à tous ceux qui ont collaboré à la réalisation de ce travail, en guise de reconnaissance

## Résumé

En Algérie, le lait est consommé le plus souvent à l'état cru échappant ainsi à tout contrôle de qualité. La mammite est devenue un problème de sécurité alimentaire par sa forme subclinique de la maladie. Notre hypothèse dans cette étude est que la consommation du lait cru des vaches avec des mammites subcliniques est un outil de transmission de Staphylocoques résistants aux antibiotiques, pouvant passer inaperçus vers l'homme.

Un total de 981 échantillons de lait cru ont été obtenus à partir des quartiers de 250 vaches laitières. Le test de la mammite Californie (CMT) a été effectué pour diagnostiquer la présence de la mammite subclinique. Les échantillons de lait ont été l'objet d'une étude bactériologique et les colonies présumées ont été confirmées en premier lieu phénotypiquement par la caractérisation biochimique utilisant le système API-20-Staph. La détermination de certains facteurs de virulence pour les Staphylocoques a été réalisée en combinaison entre la production de la coagulase libre (la méthode en tube) et liée (le test du Staphylect plus) pour l'identification des isolats et, la production de la Dnase. Les tests de sensibilité ont été réalisés par la méthode de diffusion sur gélose Muller-Hinton pour 13 antibiotiques fréquemment utilisés en médecine vétérinaire en Algérie et, le système VITEK 2 est utilisé pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour les souches confirmées comme *S.aureus*. Dans la deuxième partie de notre étude, une caractérisation génotypique des facteurs de virulence, par la détection de la présence du gène *coa* et du gène *nuc* chez les souches de *S.aureus* isolées par amplification par PCR. Des facteurs de risque hypothétiques affectant la mammite subclinique ont été étudiés comme la race, la saison, l'âge, le vêlage ; ces derniers impliquent une interaction claire entre l'hôte et l'agent causal.

Selon le test CMT, la prévalence de la mammite subclinique dans la région est de 33,6%. L'examen bactériologique a révélé un pourcentage d'échantillons positifs de 14,2%. Dans l'ensemble, il y avait une association positive significative entre l'examen bactériologique et le test CMT dans le lait obtenu par le Test Khi 2 ( $p < 0,001$ ). L'identification biochimique a montré que 73,75% des isolats sont des Staphylocoques à coagulase négatif et, que 26,25% sont des *S.aureus*. Après l'identification biochimique le test de Staphylect plus et le test de la coagulase en tube ont été réalisés. Une réaction significativement positive ( $p < 0,001$ ) a été établie pour les souches de *S.aureus* ; sur 21 souches identifiées 19 (90,48%) souches se sont révélés positives. Des souches non *S.aureus* considérées normalement comme des coagulases négatives se sont avérées des coagulases positives : *S. xylosus*, *S. hominis*, *S. caprae*, *S. intermedium*, *S. chromogenes*, *S. sciuri*, *S. epidermis*, *S. lentus*, *S. hyicus*. Dans la présente étude, l'activité

Dnase était positive chez 23.75% et 33.75% pour *S.aureus* et les Staphylocoques à coagulase négative, respectivement. Sur le total de 21 isolats de *S. aureus*, 19 (90.48%) isolats ont été trouvés Dnase positifs et 2(9.52%) Dnase négatifs. La résistance à la pénicilline G touche 61,02 % des souches de Staphylocoques à coagulase négative, celle à la tétracycline est de 74,58 %. Pour *S. aureus*, nous avons retrouvé une résistance élevée à la pénicilline G 80,95% et à la tétracycline 71,43%. Selon nos résultats, 02 (9.52%) isolats de *S. aureus* sont résistants à la meticilline, avec modification de Protéines liant les pénicillines (PLP), identifié par le test du disque de l'oxacilline avec un diamètre de : R  $\leq$ 10 mm et confirmé par une CMI  $\geq$ 4 $\mu$ g/l. La CMI de la vancomycine a prouvé qu'une souche est une VRSA avec une CMI  $\geq$ 32 $\mu$ g/ml, et une seconde souche est une hétéro-VISA avec une CMI >1 $\mu$ g/ml. Nous avons noté que pour les 21 souches de *S.aureus*, 11 phénotypes de résistances différents dominées par la résistance à la pénicilline G.

L'amplification par PCR de l'extrémité 3' du gène *coa* des isolats de *S. aureus*, a révélé que parmi 21 isolats, 18 d'entre eux donnent une seule bande comprise entre 547 pb et 875 pb. Dans la présente étude, les amorces utilisées pour le gène *nuc* ont reconnu 19 isolats de *S. aureus* parmi les 21 isolats, et la taille moléculaire du produit d'amplification du gène *nuc* est de 395pb.

Le test du Khi deux ( $\chi^2$ ) a révélé qu'il y avait une dépendance entre le test CMT et la race (P=0,026), avec une prévalence de la mammite subclinique aux niveaux des quartiers chez 204 (30,72%) vaches croisées. Le groupe d'âge de 1-4 ans était le plus sensible à la mammite subclinique. Dans la présente étude, il existe une dépendance entre la survenue de la mammite subclinique, le stade de lactation (p<0,001), le vêlage (p=0,041) chez les vaches de race croisées, et la zone de prélèvement (p=0,043). Le résultat de la bactériologie dépend du stade de lactation, de la race et de la saison avec des p de (0,031, 0,017, 0,005) respectivement. Nos résultats indiquent que la vache est loin d'être atteinte d'une mammite subclinique au milieu du stade de lactation (OR=0,357, p<0,001 et IC=95%).

Nos résultats ont indiqué qu'il y'a un passage des staphylocoques multi-résistants dans le lait cru consommé dans la région ouest de l'Algérie, avec une prévalence supérieure des staphylocoques coagulase négatifs par rapport aux *S. aureus*. Malgré le pouvoir pathogène méconnu de certaines espèces, ces organismes peuvent être des réservoirs de résistance aux antibiotiques ; ce qui nécessite une surveillance périodique de la résistance des staphylocoques aux antimicrobiens dans le but de contrôler leurs propagations.

**Mots clés :** Mammite subclinique, Sécurité alimentaire, AntibioGramme, Concentration minimale inhibitrice, Réaction de polymérase en chaîne, Facteurs de risque.

## Abstract

In Algeria, the milk is consumed directly, generally in the raw state thus escaping any quality control. The subclinical mastitis becomes a problem of food security. Our hypothesis is that consumption of the raw milk of the cows with subclinical mastitis is a tool for transmission of antibiotic resistant staphylococci, which can pass unobserved to man.

A total of 981 raw milk samples were obtained from 250 cow's quarters. The California Mastitis test (CMT) has been performed to diagnose the presence of subclinical mastitis. Milk samples were subjected to a bacteriological study and presumptive colonies were confirmed by biochemical characterization using the API-Staph-20 system. The determination of some virulence factors for staphylococci was realized by combination between the production of free coagulase (the tube method) and clumping factor (the Staphytect test plus) for the identification of isolates, and the production of the Dnase. The sensitivity tests were performed by disc diffusion method on Muller-Hinton agar, for 13 antibiotics commonly used in veterinary medicine in Algeria, and the VITEK 2 system is used for the determination of the minimum inhibitory concentrations (MIC) for the strains confirmed as *S. aureus*.

In the second part of our study, the genotypic characterization of virulence factors by detecting the presence of *coa* and *nuc* gene in the isolated of *S. aureus* strains by PCR amplification. Hypothetical risk factors affecting subclinical mastitis were studied as breed, season, age, calving, this implies a clear interaction between the host and the causative agent.

According to the CMT the prevalence of subclinical mastitis in our region is 33.6%. Bacteriological examination revealed a percentage of positive samples with 14.2%. Overall there was a significant positive association between bacteriological examination and CMT in the milk obtained by the Chi 2 test ( $P < 0.001$ ).

The biochemical identification showed that 73.75% of the isolates are CNS, and that 26.25% are *S. aureus*. After the biochemical identification; the test of Staphytect plus and the tube coagulase test were realized and a significantly positive reaction ( $P < 0.001$ ) was shown for the strains of *S. aureus*, on 21 strains identified 19 (90.48%) strains are found positive. Non *S. aureus* strains normally considered as the negative coagulase were proven positive coagulase: *S. xylosus*, *S. hominis*, *S. caprae*, *S. intermedium*, *S. chromogenes*, *S. sciuri*, *S. epidermis*, *S. lentus*, *S. hyicus*. In this study, the DNase activity was positive in 23.75% and 33.75% for *S. aureus* and CNS, respectively. Of the total of 21 isolates of *S. aureus*, 19 (90.48%) isolates were found positive DNase and 2 (9.52%) are DNase negative.

Resistance to penicillin G touches 61.02% of the strains of CNS that with the tetracycline is of 74.58%. For *S. aureus*, we found a high resistance to penicillin G 80.95% and with the tetracycline 71.43%. According to our results, 02 (9.52%) isolate is *S. aureus* resistant to the methicillin, with modified penicillin-binding proteins, identified by the test of the disk of the oxacillin with a diameter of:  $R \leq 10$  mm, and confirmed by one MIC  $\geq 4$   $\mu\text{g} / \text{l}$ . The MIC of the vancomycin has proved that one strain is a VRSA with one MIC  $\geq 32$   $\mu\text{g} / \text{ml}$ , and a second strain is a hetero-VISA with one MIC  $> 1$   $\mu\text{g} / \text{ml}$ . We noted that for the 21 strains of *S. aureus*, 11 different phenotypes of resistances dominated by resistance to “penicillin G”.

The PCR amplification of the 3' end of the gene *coa* of *S. aureus* isolates, showed that 18 of 21 isolates give a single band between 547 bp and 875 bp. In this study the primers used for the *nuc* gene recognized 19 isolates of *S. aureus* among the 21 isolates, and molecular size of the amplification product of the *nuc* gene is 395pb.

The chi-square ( $\chi^2$ ) analysis revealed that there was a dependency between the CMT test and breed ( $P = 0.026$ ), with a prevalence of subclinical mastitis at quarters levels in 204 (30.72%) crossed cows.

The age group of 1-4 years was the most sensitive to subclinical mastitis. In this study, there is a dependency between the occurrence of subclinical mastitis, stage of lactation ( $p < 0.001$ ) and calving ( $p = 0.041$ ) in cross cows, and the sampling area ( $p = 0.043$ ). The result of bacteriology depends on the stage of lactation, breed and season with  $p$  (0.031, 0.017, 0.005), respectively.

Our results indicate that the cow is far from reaching a subclinical mastitis in middle stage of lactation (OR=0.357,  $p < 0.001$  and 95% CI).

Our results indicated that there's a multi-resistant staphylococci passage in raw milk consumed in the western region of Algeria, harmful for the health and the security of the consumer, with a higher prevalence of coagulase negative staphylococci compared with *S. aureus*. Despite unknown pathogenicity of the species, organisms may be the tanks of the resistant to antibiotics; which requires periodic monitoring of antimicrobial resistance of staphylococci in order to control their spread.

**Key words:** Subclinical mastitis, Food Security, Antimicrobial, Minimum Inhibitory Concentration, Multi-resistance, Polymerase Chain Reaction, Risk factors.



## مُلخَص

في الجزائر يتم استهلاك الحليب في معظم الاحيان خاما متجاوزا كل طرق المراقبة الجودة وقد أصبح مرض التهاب الضرع مشكل للصحة الغذائية تحت شكله دون الاكلينيكي .

تتمثل فرضيتنا لهذه الدراسة في كون أن استهلاك الحليب الخام من الأبقار مع التهاب الضرع تحت الإكلينيكي هو أداة لنقل المكورات العنقودية المقاومة للمضادات الحيوية، التي يمكن ان تنتقل بشكل غير ملاحظ الى الانسان وعليه فقد تم الحصول على ما مجموعه 981 عينة للحليب الخام من ضرع 250 بقرة , لقد تم إجراء اختبار كاليفورنيا التهاب الضرع (CMT) لتشخيص وجود التهاب الضرع تحت الإكلينيكي حيث تعرضت عينات الحليب لدراسة جرثومية ومنه تم تأكيد النمط الظاهري للمستعمرات عن طريق توصيف الكيمياء الحيوية باستخدام نظام-API 20-Staph.

كما تحقق تحديد بعض عوامل الضراوة للمكورات العنقودية من قبل الجمع بين إنتاج المخثرة (طريقة الأنبوب) وعامل التكتل) اختبار (plus Staphylect) لتحديد العزلات، وإنتاج Dnase و تم إجراء اختبارات الحساسية لثلاثة عشرة مضادا حيويًا الأكثر استخدامًا عادة في الطب البيطري في الجزائر، وقد تم استخدام نظام VITEK 2 لتحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمكورات العنقودية البرتقالية. بالنسبة الجزء الثاني من دراستنا، تم التوصيف الوراثي لعوامل الضراوة عن طريق الكشف عن وجود الجينات *coa* والجينات *nuc* في سلالات للمكورات العنقودية البرتقالية المعزولة بواسطة التضخيم عن طريق تقنية تفاعل البلميريز التتابعي (PCR) وتمت دراسة عوامل الخطر التي تؤثر افتراضيا على التهاب الضرع تحت الإكلينيكي مثل العرق، الموسم، والعمر، الولادة، هذه العوامل تتفاعل بشكل واضح بين المضيف و العامل المسبب.

وفقا لاختبار كاليفورنيا لالتهاب الضرع (CMT) اكتشفنا ان انتشار التهاب الضرع تحت الإكلينيكي في المنطقة هو 33.6% وكشف الفحص البكتريولوجي نسبة العينات الإيجابية 14.2% , فعموما كان هناك وجود علاقة إيجابية ذات دلالة إحصائية بين الفحص البكتريولوجي و CMT في الحليب و التي تحصل عليها باختبار  $\chi^2$  ( $P < 0.001$ ) كما أظهر تحديد الكيمياء الحيوية أن 73.75% من العزلات هي مكورات عنقودية سلبية المخثرة، و26.25% مكورات عنقودية برتقالية. بعد تحديد الكيمياء الحيوية .

اجري اختبار إنتاج المخثرة وعامل التكتل وتبين وجود علاقة إيجابية ذات دلالة إحصائية ( $P < 0.001$ ) لسلالات بكتريا المكورة العنقودية البرتقالية، من بين 21 سلالة 19 (90.48%) سلالة وجدت إيجابية وقد أثبتت سلالات غير *S.aureus* التي تعتبر عادة ذات مخثرة سلبية انها ذات مخثرة إيجابية : *S.xylosus* ، *S.hominis* ، *S.caprae* .

*S.hyicus* ، *S.lentus* ، *S.epidermis* ، *S.sciuri* ، *S.chromogenes* ، *S.intermedius*

من خلال هذه الدراسة، تبين لنا ان النشاط ي Dnase إيجابي في 23.75% و 33.75% للبكتريا المكورة العنقودية البرتقالية والمكورات العنقودية سلبية المخثرة على التوالي من مجموع 21 عزلة من المكورة العنقودية البرتقالية 19 (90.48%) عزلة هي ذات Dnase إيجابي و 2 (9.52%) هي ذات Dnase سلبية. مست مقاومة البنسلين تمس 61.02% من سلالات المكورات العنقودية سلبية المخثرة، والتتراسيكلين 74.58%. للبكتريا المكورة العنقودية البرتقالية، وجدنا نسبة مقاومة عالية للبنسلين 80.95% و 71.43% للتتراسيكلين.

وفقا لنتائجنا، 02 (9.52%) من العزلات العنقودية الذهبية هي مقاومة للميثيسيلين، مع تعديل البروتين ملزمة البنسلين (PLP) و قد تم تحديد التركيز المثبط الأدنى للفانكوميسين، اذ اثبت ان احد السلالات هي عنقودية ذهبية مقاومة للفانكوميسين VRSA و اخرى هي عنقودية ذهبية غيرالمتجانسة و سيط فانكوميسين Hétéro-VISA . لاحظنا أن ل 21 سلالة من بكتريا المكورة العنقودية البرتقالية، صف الى ذلك وجود 11 نمط ظاهري مختلف للمقاومة للمضادات الحيوية والتي بسيطرة النمط الظاهري المقاوم للبنسلين.

عملية التضخيم بتقنية تفاعل البليمرز التتابعي لنهاية 3' للجين *coa* للبكتريا المكورة العنقودية البرتقالية ، وجدت أن 18 من العزلات 21 تعطي شريط واحدة بين 547 زق (زوج قواعد) و 875 زق في هذه الدراسة البادئات المستخدمة للجين *nuc* تعرفن على 19 عزلة من بين 21 عزلة للبكتريا المكورة العنقودية البرتقالية ، والحجم الجزيئي للمنتج التضخيم للجين *nuc* هو 395 زق وكشف تحليل  $\chi^2$  أن هناك تبعية بين اختبار CMT والعرق (P = 0.026)، مع انتشار مرض التهاب الضرع تحت الإكلينيكي في 204 (30.72%) بقرة هجينة وكانت الفئة العمرية من 1-4 سنوات هي الأكثر حساسية لالتهاب الضرع تحت الإكلينيكي. الملاحظ في هذه الدراسة، وجود تبعية بين حدوث التهاب الضرع تحت الإكلينيكي ومرحلة الرضاعة (P > 0.001) والولادة (P = 0.041) في الأبقار المهجنة، ومنطقة أخذ العينات (P = 0.043). نتيجة الجراثيم يعتمد على مرحلة الرضاعة، السلالة والموسم مع P (0.031، 0.017، 0.005) على التوالي. تشير نتائجنا إلى أن البقرة هي بعيدة كل البعد عن التأثر بالتهاب الضرع تحت السريرية في المرحلة المتوسطة من الرضاعة OR = 0.357 ، P < 0.001 ، CI= 95% ، كما توصلنا إليها بوجود ممر للمكورات العنقودية المقاومة للمضادات الحيوية في الحليب الخام المستهلكة في المنطقة الغربية من الجزائر، مع ارتفاع معدل انتشار سلالات المكورات العنقودية سلبية المخثرة مقارنة مع سلالات المكورة العنقودية البرتقالية.

على الرغم من إمكانية المسببة للأمراض غير معروفة من بعض الأنواع، قد تكون هذه السلالات خزانات للمقاومة ضد المضادات الحيوية، مما يتطلب الرصد الدوري لمقاومة المكورات العنقودية المضادة للميكروبات من أجل السيطرة على انتشارها.

**الكلمات المفتاحية:** التهاب الضرع تحت الإكلينيكي، الأمن الغذائي، المضادات، التركيز المثبط الأدنى، تقنية تفاعل البليمرز التتابعي، عوامل الخطر.

# Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
مُلخَص	
Table des matières	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction .....	1

## *Chapitre I : Rappel bibliographique*

I.1 La filière lait .....	3
I.1.1 Le lait : un produit de large consommation .....	3
I.1.2 Situation et importance et de l'élevage bovin .....	4
I.1.3 Structure de la production de lait .....	6
I.2 La glande mammaire de l'anatomie à la physiologie de l'infection .....	7
I.2.1 Le système alvéolaire .....	8
I.3 Physiologie de la descente du lait .....	10
I.4 La mammite bovine.....	11
I.4.1 Définition et conséquences .....	11
I.4.2 Le diagnostic de la mammite .....	12
I.4.3 Symptomatologie de la mammite .....	12
I.4.4 La gravité de la mammite .....	13
I.4.5 Syndromes cliniques de la mammite .....	13
I.4.6 Dynamique de l'infection du troupeau.....	14
I.5 Étiologie de la mammite .....	15
I.5.1 Caractéristique générale .....	16
I.5.2 Type des agents pathogènes .....	18
I.5.3 Les agents pathogènes de la mammite contagieuse .....	18
I.5.4 Les agents pathogènes opportunistes de la peau des trayons.....	19
I.5.5 Les agents pathogènes de la mammite environnementale .....	19
I.5.6 Les agents majeurs contre les agents pathogènes mineurs .....	21
I.5.7 Les agents pathogènes majeurs .....	22
I.5.8 Les agents pathogènes mineurs .....	23
I.5.9 Les agents pathogènes rares de la mammite .....	24
I.6 La mammite Staphylococcique chez les vaches laitières .....	25
I.6.1 Taxonomie .....	25
I.6.2 La pathogénicité et la Pathogenèse .....	27
I.6.3 Identification .....	29
I.6.4 Est-ce que la mammite à SCN protège le quartier par rapport à d'autres infections? .....	31
I.7 Les mécanismes de défense mammaire .....	31
I.7.1 Les défenses anatomiques.....	31
I.7.2 Les défenses cellulaires .....	32
I.7.3 Les défenses solubles.....	34
I.8 Le diagnostic de la mammite .....	36
I.8.1 Détection de la mammite .....	36
I.8.2 Les approches actuelles pour le diagnostic de la mammite .....	36
I.8.3 Le test de mammite de Californie (CMT).....	37
I.8.4 La précision du test CMT .....	38
I.8.5 Avantages et inconvénients du test CMT.....	38
I.9 Étude épidémiologique de la mammite.....	40
I.9.1 La prévalence .....	40
I.9.2 La sensibilité aux mammites .....	42
I.9.3 Source et transmission de la bactérie .....	43

I.9.4 Pathogénèse.....	44
I.10 Antibiorésistance.....	45
I.10.1 Qu'est-ce qu'un antimicrobien et un antibiotique ? .....	45
I.10.2 Les antibiotiques en médecine vétérinaire .....	46
I.10.3 Qu'est-ce que l'antibiorésistance ? .....	48
I.10.4 Définition de la résistance bactérienne.....	49
I.10.5 L'utilisation d'antimicrobiens chez les animaux et le développement de la résistance.....	50
I.10.6 Phénomène de l'antibiorésistance.....	51
I.10.7 Origines de l'antibiorésistance.....	51
I.10.8 Mécanismes de résistance.....	53
I.10.9 Problèmes rencontrés : risques pour la santé animale et humaine.....	54
I.11 Importance de la mammite .....	58
I.11.1 Les effets économiques de la mammite bovine et de la gestion de la mammite .....	58
I.11.2 Les estimations des coûts de la mammite .....	60
I.12 La mammite et la qualité du lait cru, la sécurité et le rendement.....	60
I.12.1 Le nombre de cellules somatiques .....	61
I.12.2 Effets de la mammite sur la qualité du lait cru, de la sécurité et du rendement .....	62
I.13 Le lait cru une menace pour la santé publique .....	65
I.13.1 Source du danger.....	65
I.13.2 Risques liés à la consommation de lait cru .....	66
I.14 Le traitement de la mammite subclinique .....	67
I.14.1 La prévention de la mammite .....	68

## Chapitre II: Matériels et Méthodes

II.1 Hypothèse du travail.....	69
II.2 Objectifs de l'étude.....	69
II.2.1 Objectifs principaux.....	69
II.2.2 Objectifs secondaires .....	69
II.3 Enquête épidémiologique .....	69
II.3.1 Type, lieu et période de l'étude .....	69
II.3.2 Collecte des données.....	70
II.3.3 Les documents et recueil des données.....	71
II.4 Description de l'échantillon de l'étude.....	71
II.4.1 Prélèvement .....	71
II.4.2 Réalisation du prélèvement .....	72
II.4.3 Conservation et traitement des prélèvements.....	72
II.5 Le test de CMT .....	72
II.5.1 Principe.....	73
II.5.2 Technique de réalisation .....	73
II.5.3 Lecture et interprétation.....	73
II.6 Les analyses de laboratoire.....	74
II.6.1 L'enquête microbiologique du lait de mammite .....	74
II.6.2 Les analyses bactériologiques .....	74
II.6.3 Ensemencement et isolement.....	74
II.6.4 Identification phénotypique .....	74
II.6.5 Le system API.....	75
II.7 Les facteurs de virulences .....	75
II.7.1 Le test à la coagulase.....	76
II.7.2 Intérêt clinique.....	76
II.7.3 Principe.....	76
II.7.4 Le test de Dnase.....	77
II.7.5 Le test Staphylect Plus .....	77
II.8 Tests de sensibilité aux antibiotiques .....	79
II.8.1 Méthode d'antibiogramme par diffusion (méthode des disques).....	79
II.8.2 La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par le VITEK 2 .....	81
II.8.3 Le typage du gène de coagulase.....	83
II.8.4 La nucléase thermostable (Thermonucléase = TNase) .....	84
II.8.5 Les amorces du PCR .....	84

II.8.6 La détection moléculaire des gènes de virulences .....	85
II.8.7 Le mélange réactionnel de la PCR.....	86
II.8.8 Le principe de la PCR.....	86
II.8.9 La PCR .....	86
II.8.10 Détection des produits PCR par électrophorèse sur gel d'agarose.....	87
II.8.11 Préparation du gel à 5% .....	88
II.8.12 La composition de la solution de dépôt sur gèle d'agarose.....	88

### *Chapitre III: Résultats et discussion*

III.1 Le diagnostic sanitaire mammaire par le CMT .....	91
III.2 L'isolement et l'identification des isolats .....	94
III.2.1 Identification phénotypique.....	94
III.3 Étude génotypique des gènes de virulences <i>Coa</i> et <i>nuc</i> .....	111
III.3.1 Le gène <i>coa</i> .....	112
III.3.2 Le gène <i>nuc</i> .....	114
III.4 Les facteurs de risques.....	115
III.4.1 La relation entre mammite subclinique et l'âge.....	115
III.4.2 La relation entre mammite subclinique et la race .....	117
III.4.3 La relation entre les Staphylocoques isolées de la mammite subclinique et le rang de lactation.....	119
III.4.4 La prévalence de la mammite subclinique, en relation avec le stade de la lactation et de la parité par rapport à la race.....	121
III.4.5 L'association entre la prévalence de la bactériologie positif et les divers facteurs de risque.....	122
III.4.6 L'analyse de la régression logistique uni-variée et multi-variée de la prévalence des facteurs de risques de la mammite subcliniques.....	123
<b>Conclusion .....</b>	<b>125</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>129</b>
<b>Présentation des tranaux</b>	
<b>Annexes</b>	

## Liste des abréviations

ADN :	Acide désoxyribonucléique
AD/PD/AG/PG :	Antérieure et postérieur droit et gauche
AES:	Système expert avancée
API :	Index analytique du profil
ARN :	Acide ribonucléique
AST :	Test de sensibilité aux antimicrobiens
ATCC:	Collection de cultures de type américain
BET :	Bromure d'éthidium
BHI :	Infusion cœur-cervelle
°C:	Degré Celsius
CLSI :	Institut des normes cliniques et de laboratoire
CMI :	Concentrations Minimales Inhibitrices
CMT :	Test de mammite de Californie
coa :	Gène qui code pour l'enzyme de la coagulase
Da :	Dalton
ddH2O :	Eau bidistillée
Dnase :	Désoxyribonucléase
dNTP :	DeoxyriboNucleotide TriPhosphate
EDTA :	Ethylène diamine tétraacétique
Fc :	Fragment cristallisable
FDA :	Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux
h :	Heure
ha:	Hectare
hab:	Habitant
HCl 1N:	HCL un normal
hétéro-VISA :	Staphylococcus aureus sensibles à la vancomycine avec présence d'une sous population intermédiaire à la vancomycine
IgG et IgM :	Immunoglobulines G et M
ISO :	Organisation internationale de normalisation
kg:	Kilogramme
l :	Litre
LDH :	Lactate Déshydrogénase
LPS :	Lipopolysaccharide
mg :	Milligramme
µl:	Microlitre
mM :	Millimètre cube
nuc :	Gène qui code pour l'enzyme TNase =Thermonucléase
pb :	Paire de base
PCR :	La réaction en chaîne par polymérase
pH :	Le potentiel hydrogène
PLP :	Protéines liant les pénicillines
PLP2a :	Protéine liant les pénicillines 2a
PNN :	Polynucléaires neutrophiles
RNase :	Ribonucléase
SARM :	Staphylococcus aureus résistants à la meticilline
S.aureus :	Staphylococcus aureus
SPP :	Sous espèces
Tris :	Trishydroxyméthylaminométhane
VISA :	Staphylococcus aureus à résistance intermédiaire à la Vancomycine
VRSA :	Staphylococcus aureus résistante à la vancomycine

## Liste des figures

Figure 1: La consommation par habitant par an en litres du lait (Souki, 2009). .....	3
Figure 2. La suspension de la mamelle (Blowey et al., 2010). .....	8
Figure 3. La structure de la mamelle et des trayons (Blowey et al., 2010). .....	9
Figure 4. L'anatomie et la physiologie de l'éjection du lait (Senger, 2005) .....	11
Figure 5. Motif de l'infection intra mammaire dans un troupeau laitier (Andrews et al., 2008). .....	15
Figure 6. Schéma de la glande mammaire bovine montrant les facteurs anatomiques les plus importants qui agissent comme des barrières de défense (Oviedo-Boyso et al., 2007). .....	34
Figure 7. Les facteurs épidémiologiques influençant la mammite, étiologie et la physiopathologie (Contreras et al., 2011). .....	43
Figure 8. Principes de la catégorisation clinique d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un antibiotique (Cavallo et al., 2008).....	50
Figure 9. Mécanismes de transferts des gènes de résistance (Guillemot et al., 2006). .....	53
Figure 10. Relations entre l'utilisation des antibiotiques et antibiorésistance (Faye, 2005) .....	55
Figure 11. La relation entre les infections intra mammaires aux Staphylococcus aureus, les réponses induites par la glande mammaire et les changements observés sur les composants du lait (Le Marechal et al., 2011). ..	63
Figure 12. Le schéma représentatif du programme de la PCR utilisé .....	87
Figure 13. Le thermocycleur MultiGene Gradient Thermal Cycler, Labnet.....	87
Figure 14. Système d'électrophorèse sur gel d'agarose.....	88
Figure 15. Le Gel Doc « Syngene » .....	90
Figure 16. La distribution de la mammite subclinique selon les quartiers .....	92
Figure 17. La distribution des quartiers selon leurs états sanitaires.....	93
Figure 18. Profils de résistance aux antibiotiques d'isolats de S. aureus.....	104
Figure 19. Profils de résistance aux antibiotiques d'isolats de Staphylocoques à coagulase négative.....	105
Figure 20. Antibiogrammes des Staphylocoques à coagulase négative isolées.....	110
Figure 21. Migration des échantillons d'ADN des souches de S.aureus sur gel d'agarose. M : Marqueur de poids moléculaire de 100 pb. ....	112
Figure 22. Migration des produits de PCR du gène coa sur gel d'agarose 1%. M : Marqueur de poids moléculaire de 100 pb, N : contrôle négatif, les pistes de 1 à 21 représentent les produits de PCR. ....	114
Figure 23: Détection par PCR du gène nuc. M: Marqueur de poids moléculaire de 100 pb, N : contrôle négatif. ....	115
Figure 24. La relation entre la mammite subclinique et l'âge selon la race .....	116
Figure 25. La relation entre les quartiers infectés et l'âge .....	117
Figure 26. Distribution des CMT positif selon la race .....	118
Figure 27. La relation entre les quartiers infectés et la race .....	119

## Liste des tableaux

Tableau 1. Évolution de la filière lait en Algérie (1997-2007) (El Hassani, 2013) .....	4
Tableau 2. Principaux indicateurs des chaînes de produits laitiers dans les pays du Maghreb (2010) (Sraïri et al., 2013). .....	7
Tableau 3. le système de notation de la gravité pour la mammite (Royster et al., 2015) .....	13
Tableau 4 . Résumé des principaux agents pathogènes de la mammite bovine et leur classification historique comme contagieuse ou environnementale (Green et al., 2012). .....	16
Tableau 5 . La mammite bovine : principaux agents étiologiques, source habituelle et types cliniques (Markey et al., 2013). .....	17
Tableau 6. Les principaux facteurs de virulence des Staphylocoques pathogènes en médecine vétérinaire (Markey et al., 2013). .....	28
Tableau 7 .Types cellulaires rencontrés dans la glande mammaire saine et infectée (Boutet et al., 2006). .....	32
Tableau 8. Lecture et interprétation du test CMT (Cockcroft, 2015) .....	37
Tableau 9. Le comptage de cellules somatiques et d'autres méthodes actuelles de détection des mammites (Viguiet et al., 2009). .....	39
Tableau 10. Les facteurs bactériens, l'hôte et les facteurs environnementaux qui influent sur l'apparition de la mammite (Markey et al., 2013). .....	44
Tableau 11. Les principales différences entre les organismes contagieux et environnementaux (Blowey et al., 2010). .....	44
Tableau 12. Principaux modes d'action des grandes familles d'antibactériens (Auckenthaler, 1999 ; Greenwood, 2003 ; Alanis, 2005). .....	46
Tableau 13. Coïncidence de temps entre la découverte / production d'agents antimicrobiens, leur introduction en utilisation clinique, ainsi que l'apparition de bactéries résistantes (Schwarz et al., 2001 a) .....	48
Tableau 14. Mécanismes de résistance (Carle et al., 2009 ; Bebell et al., 2014) .....	54
Tableau 15. Processus d'émergence et de dissémination de la résistance aux antibiotiques (Sanders et al., 2011) .....	56
Tableau 16. Interprétation du test CMT selon les indications accompagnant le réactif (Markey et al., 2013 ; Cockcroft, 2015) .....	73
Tableau 17. Les séquences des amorces utilisées .....	86
Tableau 18. Préparation du mix en volume pour l'amplification .....	86
Tableau 19 . La prévalence et la distribution de la mammite au niveau des vaches et des quartiers examinés .....	92
Tableau 20. La distribution des quartiers selon le score du test CMT .....	93
Tableau 21. La prévalence de la mammite et la bactériologie par rapport aux quartiers .....	94
Tableau 22. La fréquence de distribution des espèces de Staphylocoques isolés des quartiers avec une mammite subclinique (CMT positives). .....	95
Tableau 23. Relation entre les bactéries isolées et le score du test CMT .....	96
Tableau 24. Résultats des 2 tests Staphylect plus et Coagulase libre pour les espèces isolées .....	99
Tableau 25. Résultats du test Dnase .....	101
Tableau 26. La résistance multiple aux antibiotiques parmi les souches de Staphylocoques isolées. ....	103



Tableau 27. Le test de sensibilité des S. aureus pour différents antibiotiques et la CMI réalisée par automate VITEK 2 .....	105
Tableau 28. La relation entre la mammite subclinique et la race .....	117
Tableau 29. La relation entre les Staphylocoques isolés et le rang de lactation .....	120
Tableau 30. La prévalence de la mammite subclinique, en relation avec le stade de la lactation et de la parité par rapport à la race .....	121
Tableau 31. L'association entre la prévalence de la mammite subclinique, la bactériologie positive et les divers facteurs de risque .....	123
Tableau 32. L'analyse de la régression logistique univariée et multivariée de la prévalence des facteurs de risque de la mammite subclinique.....	124

## Introduction

Le lait cru a des propriétés nutritionnelles supérieures (Mortari et *al.*, 2014). Grâce à son pH neutre et à l'activité de l'eau élevée, c'est un excellent milieu de croissance pour les différents micro-organismes (Claeys et *al.*, 2013). En effet, la communauté médicale est tenue de mettre en exergue qu'il est un véhicule potentiel de maladies d'origine alimentaire (Mortari et *al.*, 2014).

Au-delà de l'impact direct sur la santé humaine, le lait contaminé est une barrière économique pour l'industrie laitière (Kaouche et *al.*, 2015). Il provoque des problèmes de santé animale, et des changements de qualité du lait (Le Maréchal et *al.*, 2011).

La croissance démographique et l'urbanisation provoquent une augmentation de la demande pour le lait dans les villes des pays en voie du développement (Tolosa et *al.*, 2013). Or, dans la plupart des pays africains, le lait est directement autoconsommé, le plus souvent à l'état cru échappant ainsi à tout contrôle de qualité. La mammite est devenue un problème de sécurité alimentaire (Idriss et *al.*, 2013).

La mammite bovine est la maladie la plus courante affectant les troupeaux laitiers à travers le monde (El-Ashker et *al.*, 2015). La forme subclinique de la maladie est la plus persistante et est largement répandue ; importante pour l'hygiène du lait (Coulona et *al.*, 2002). Bien qu'elle ne se manifeste pas par des changements visibles dans la glande mammaire et dans le lait ; elle provoque une augmentation dans les cellules somatiques. Par conséquent, elle n'est pas facilement reconnue par les agriculteurs et peut conduire à d'importantes pertes de production (Hovinen et *al.*, 2011). En outre, les vaches souffrant d'infections subcliniques doivent être considérées comme une source à de nouvelles infections au sein des troupeaux (Dieser et *al.*, 2014).

La mammite est aussi la raison la plus commune pour l'utilisation des antibiotiques dans les troupeaux laitiers, comme la thérapie antibiotique est une composante majeure et un outil principal de contrôle de la maladie (Maga 2005). Près de la moitié des antibiotiques, actuellement utilisés dans les pays développés, sont utilisés dans l'agriculture ; y compris de nombreux antibiotiques destinés à traiter les maladies humaines. Cette utilisation peut favoriser la résistance aux antibiotiques chez les bactéries qui sont communs chez les animaux et qui causent la maladie chez les humains (Valsangiaco et *al.*, 2000).

La résistance des bactéries pathogènes aux antibiotiques est en train de devenir un problème croissant pour la médecine humaine et vétérinaire en ce qui concerne le traitement

des maladies infectieuses. En principe, toute utilisation d'antibiotiques augmente le risque de sélection de résistance (Wallmann et al., 2003).

Une application excessive de ces agents a conduit à l'émergence de souches résistantes comme un problème croissant dans les pays développés (Jamali et al., 2015). Cette résistance antimicrobienne développée par les agents pathogènes est l'une des principales raisons du faible taux de guérison de la mammite. (Wang et al., 2015)

Par conséquent, la surveillance de la résistance aux antimicrobiens est importante pour assurer des résultats optimaux d'utilisation des antimicrobiens et de minimiser le risque pour le développement et la propagation de la résistance aux antimicrobiens (Waller et al., 2011). Toute utilisation d'un agent antimicrobien peut sélectionner des bactéries ayant des concentrations minimales inhibitrices élevées (Butaye et al., 2014).

Le diagnostic de la mammite et l'identification de l'agent causal sont importants lors du choix du traitement correct et, par conséquent nécessitent un système de diagnostic de la mammite suffisamment compétent (Karlslose et al., 2013). L'identification précoce et correcte est nécessaire pour prévenir et contrôler la propagation (Zastempowska et al., 2014).

*Staphylococcus aureus* reste l'un des organismes les plus importants associés à la mammite subclinique bovine contagieuse, non seulement en Algérie, mais dans le monde entier. De toutes les bactéries qui peuvent entrer dans la mamelle et provoquer la mammite, *Staphylococcus aureus* est non seulement répandue, mais aussi l'un des plus difficiles à traiter (Maga 2005). Cette maladie est considérée comme une maladie de la production la plus fréquente et la plus coûteuse dans les troupeaux laitiers des pays développés (Benhamed et al., 2011).

Pour quelles raisons, a-t-on visé dans cette étude à dépister la forme subclinique de la mammite ? Les raisons sont les suivantes :

- a) La forme subclinique est considérée comme 3 à 40 fois (Mir et al., 2014), 15 à 40 fois (Hamed et al., 2014) et 40-50 fois (Marimuthu et al., 2014) plus fréquente que la forme clinique et compte des pertes plus importantes en termes de production de lait.
- b) Elle représente un réservoir d'organismes infectieux, et
- c) Elle est liée à environ 70% des pertes économiques de la mammite (Abdel-Rady et al., 2009).

Par conséquent, l'enquête sur la résistance aux antimicrobiens des staphylocoques des vaches laitières est importante non seulement pour le contrôle de la mammite bovine, mais aussi pour la santé publique (Xu et al., 2015).

---

---

---

## **Chapitre I : Rappel bibliographique**

---

---

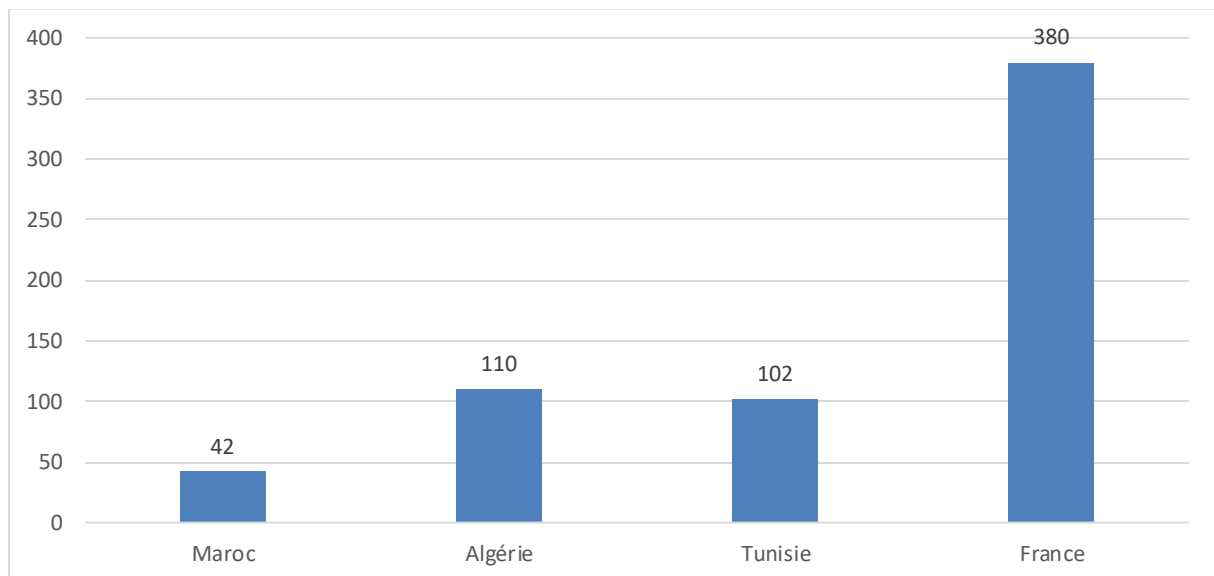
## I.1 La filière lait

### I.1.1 Le lait : un produit de large consommation

Situé dans les franges du nord de l'Afrique, comme les pays du Maghreb, l'Algérie a une longue tradition avec la consommation de produits laitiers (Sraïri et *al.*, 2013). Selon les coutumes arabes, le lait a une valeur symbolique de la vie (Benchelah et *al.*, 2008).

Étant donné la valeur symbolique que les Maghrébins accordent au lait (accueil des invités et accompagnement de régimes alimentaires dominés par les céréales). Étant un produit à haute valeur nutritionnelle, le lait est associé à l'histoire de l'humanité (Sraïri et *al.*, 2007 a).

L'Algérie est considérée comme l'un des grands pays consommateurs de lait et de produits laitiers au niveau maghrébin, et cela est dû à la demande accrue de ce produit (El Hassani, 2013). L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de trois milliards de litres par an (Hamiroune et *al.*, 2014). Le lait et ses dérivés ont été retenus par les pouvoirs publics, comme des produits alimentaires prioritaires pour sécuriser l'approvisionnement en protéines animales des populations (Sraïri 2008).



**Figure 1: La consommation par habitant par an en litres du lait (Souki, 2009).**

En plus, le lait occupe une grande importance dans l'alimentation de tout le monde, en effet, une protéine de gramme de lait, coûte huit fois moins chère que la même quantité de viande. En termes d'énergie, une calorie obtenue à partir de la viande, est vingt fois plus chère que celle du lait (Padilla et *al.*, 2001).

De par sa valeur nutritionnelle, le lait s'est substitué aux viandes rouges et blanches relativement plus chères et, est d'une part principalement lié à l'appui des prix à la

consommation par les pouvoirs publics et d'autre part devient un aliment de choix chez le consommateur algérien (Kaouche-Adjlane et *al.*, 2015).

Du domaine spécifique des produits d'origine animale, la production laitière a été intensivement soutenue depuis l'époque coloniale, compte tenu de sa meilleure efficacité métabolique par rapport à la production de viande (Vermorel et *al.*, 1998).

En Algérie en 1990, on estimait que le lait a compté pour 65,5 % dans la consommation de protéines d'origine animale, devançant largement la viande (22,4 %) et les œufs (12,1 %) (Amellal, 2000).

Les besoins en lait et produits laitiers sont considérables, avec une consommation moyenne de 115 litres par habitant / an en 2010 (Benyagoub et *al.*, 2014), et évoluent pour atteindre 140 litres / habitant en 2012. Environ 80% sont importés (Kaouche-Adjlane et *al.*, 2015).

La consommation de lait a connu une augmentation rapide ; elle passe successivement de 54 l/hab/an en 1970 à 112 l/hab/an en 1990, pour atteindre aujourd'hui les 120 l. Le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire du consommateur algérien (120 l/hab/an) comparée à celle de nos voisins tunisiens (83 l/hab/an) ou encore marocains (64l/hab/an) (El Hassani, 2013) et inférieure à la ration dans les pays d'Europe, où elle est en moyenne de 400 litres par an (Bourbouze, 2001).

**Tableau 1. Évolution de la filière lait en Algérie (1997-2007) (El Hassani, 2013)**

Années	Production lait cru (10 <sup>3</sup> l)	Collecte (10 <sup>3</sup> l)	Taux intégration (%)
1997	1050000	112700	10,8
1998	1200000	92000	9,0
1999	1558730	93000	10.1
2000	1585900	100700	11,1
2001	1637210	93500	11,0
2002	1544000	129500	10,0
2003	1610000	120000	10,0
2004	1915000	200000	15,0
2005	2092000	119365	-
2006	2244000	221249	-
2007	2180000	195360	-

### **I.1.2 Situation et importance et de l'élevage bovin**

En Algérie, l'élevage ovin prédomine, il représente 78% du total des effectifs, suivi par les caprins 14%, puis l'élevage bovin qui représente seulement 6% de l'effectif global dont 58% de vaches laitières. Une caractéristique importante de la production laitière dans la région du Maghreb est la contribution réduite des autres espèces que les bovins à la production globale.

Ainsi, les chiffres officiels révèlent que le lait provenant de petits ruminants et le chameau représente respectivement 21,3, 5,1 et 3,7% de la production globale en Algérie, Maroc et Tunisie. Par conséquent la production repose principalement sur le lait de bovins (Sraïri et *al.*, 2013).

En effet, à la différence des pays du Moyen-Orient, il n'existe pas au Maghreb de traditions de traite des petits ruminants, et le lait consommé provient essentiellement des vaches. La production et la consommation de lait camelin demeurent anecdotiques, à l'exception des villes les plus méridionales (Sraïri et *al.*, 2007 a).

L'élevage bovin est cantonné dans le Nord du pays avec quelques incursions dans les autres régions. La race principale bovine locale est la race brune de l'Atlas qui est subdivisée en 4 races secondaires : la Guelmoise à pelage gris foncé vivant en zone forestière ; la Cheurfa à robe blanchâtre que l'on rencontre en zone préforestière ; la Chélifienne à pelage fauve ; la Sétifienne à pelage noirâtre adaptée à des conditions plus rustiques.

Les races bovines améliorées sont représentées par : la Frisonne Hollandaise Pie Noire, très bonne laitière, elle est très répandue dans les régions littorales et constitue 66% de l'effectif des races améliorées ; la Frisonne française Pie Noire, également très répandue et bonne laitière ; la Pie Rouge de l'Est et la Pie Rouge Montbéliarde dont l'effectif est plus réduit.

Ces races introduites pour l'amélioration de la production se trouvent confrontées à des conditions écologiques tout à fait différentes de celles de leurs pays d'origine. Importées pour leur fort potentiel génétique, elles voient leurs performances diminuer, puisqu'une grande partie de leur métabolisme est utilisé pour leur adaptation aux facteurs environnementaux (Nedjraoui, 2003).

Le nombre de bovins varient considérablement entre les pays du Maghreb : respectivement 1,6, 2,8 et 0,6 millions en Algérie, Maroc et Tunisie. On estime que les races des vaches laitières qui servent à représenter moins de 10% de la population totale des bovins dans les années 1970 ont augmenté à 17, 23 et 55%, respectivement, en Algérie, au Maroc et Tunisie (Sraïri et *al.*, 2013).

Aujourd'hui, avec un troupeau estimé à 1,9 million de têtes de bétail, dont près d'un million de vaches laitières, la demande nationale de plus en plus grande n'est pas encore satisfaite (Kaouche-Adjlane et *al.*, 2015).

Il convient, par ailleurs, de préciser que cet accroissement de la production est surtout le fait d'une augmentation des effectifs de vaches laitières et non des rendements des exploitations. Ce qui traduit le caractère peu productif du cheptel laitier mené essentiellement en extensif au niveau des exploitations (Amellal, 2000).

---

### I.1.3 Structure de la production de lait

Les principales caractéristiques de la production de lait de bovins dans la région du Maghreb est l'offre fragmentée, induite par de nombreuses petites exploitations agricoles. Les chiffres officiels indiquent qu'en Algérie, au Maroc et en Tunisie, les exploitations de moins de 5 vaches et qui reposent sur moins de 5 ha représentent près de 80% du nombre total d'exploitations livrant du lait à la chaîne alimentaire. Une telle structure implique un nombre relativement élevé de fermes ayant des bovins (respectivement 212 000, 720.000; 112 000 en Algérie, Maroc et Tunisie), avec des différences marquées dans leurs caractéristiques de productions : les types génétiques des bovins, les systèmes d'alimentation, le poids de viande et du lait dans les stratégies de production (Sraïri et *al.*, 2013).

Beaucoup d'études de recherche ont montré que la moyenne annuelle de la production laitière par vache dans les troupeaux classiques, même à haute races génétiques laitiers ou de vaches croisées, ne dépasse pas 2.500 à 3.000 kg en Algérie, alors qu'en Tunisie, il atteint 3.500 à 4.000 kg (Rekhis et *al.*, 2007 ; Madani et *al.*, 2008 ; Sraïri et *al.*, 2009 b).

Ainsi, dans les exploitations paysannes à faible niveau de trésorerie et de savoir-faire, les niveaux de productivité laitière annuels inférieurs à 2 500 kg, témoignent de la réminiscence d'un ensemble de pratiques ancestrales, allaitantes plutôt que laitières (Sraïri 2008).

Les pays du Maghreb (Algérie, Maroc et Tunisie) sont confrontés depuis l'Indépendance à une hausse continue de la demande intérieure en produits laitiers, étant donné une dynamique démographique vigoureuse et l'urbanisation des populations (Sraïri et *al.*, 2007a).

Les rares recherches systémiques conduites dans ce domaine insistent sur le manque de spécialisation laitière (Sraïri et *al.*, 2007 b).

Le lait produit par les exploitations des vaches laitières situées en dehors des oasis est vendu directement aux consommateurs, où il est consommé à la ferme, par les membres de la famille des éleveurs (Sraïri et *al.*, 2013).

Le lait cru produit localement n'entre que pour une très faible part dans l'activité des laiteries. Ainsi, en l'espace d'une décennie, la part de lait cru produit dans les exploitations n'est entrée que pour une proportion de 6 % dans la production industrielle (Amellaï, 2000).



**Tableau 2. Principaux indicateurs des chaînes de produits laitiers dans les pays du Maghreb (2010) (Sraïri et al., 2013).**

Indicateurs	Algérie	Maroc	Tunisie
Nombre de bovins (x 1000)	1,600	2,800	600,000
Vaches laitières de race pure (en%)	17,000	23,000	55,000
La production de lait de bovins ( $\times 10^3$ tonnes)	1,811	1,900	1,059
Lait non bovin dans la production globale de lait (%)	21,300	5,100	3,700
Taux de collecte de lait formelle (%)	14,000	65,000	63,000
Nombre d'unités industriel de transformation du lait	144,000	44,000	41,000
La consommation moyenne annuelle de lait (Kg par habitant)	100,000	55,000	110,000
Taux d'autosuffisance dans les produits laitiers (en %)	49,000	89,000	95,000

La qualité du lait cru demeure un élément important dans l'évaluation de la performance de chaînes laitières, c'est en général est défini par les composants chimiques tels que graisses et de protéines contenu qui sont le résultat de l'alimentation pratiques, la race, et stade de lactation (Sraïri et al., 2009 a).

Les références existantes sur la qualité du lait dans le Maghreb région indiquent que les caractéristiques les plus évidentes de lait cru dans les systèmes de bovins du Maghreb est sa qualité hygiénique pauvres, comme son la charge microbienne est généralement 100 fois plus important que normes internationales. Cela est dû à une mauvaise hygiène au niveau de la ferme (Aggad et al., 2009).

## **I.2 La glande mammaire de l'anatomie à la physiologie de l'infection**

La glande mammaire a évolué dans toutes les espèces de mammifères pour nourrir le jeune nouveau-né. Toutefois, les animaux laitiers tels que la vache, par le biais de la sélection génétique et le progrès de la technologie de la traite, la glande mammaire ou pis donne maintenant beaucoup plus de lait qu'un veau peut en consommer et des quantités beaucoup plus importantes que l'organe d'origine a été conçu pour l'accueillir (Nickerson, 1995).

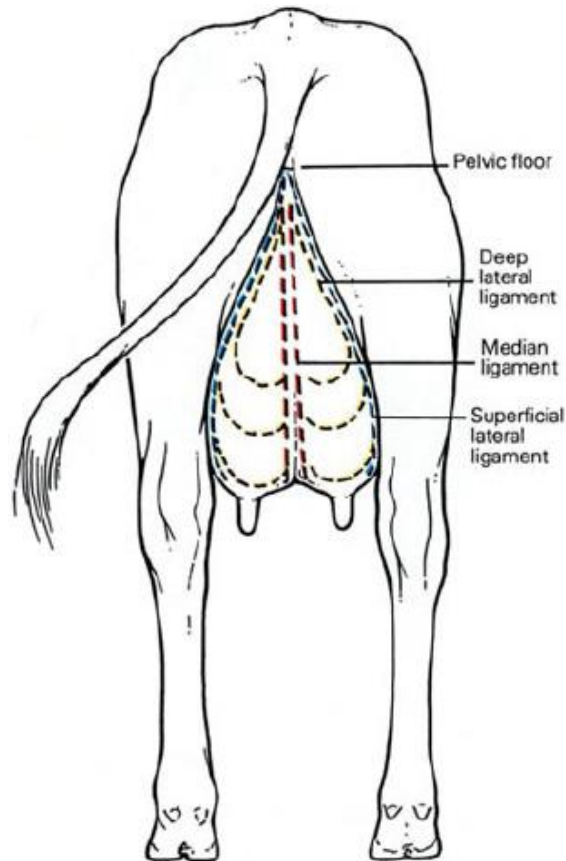
La mamelle de la vache est une glande exocrine tubulo-alvéolaire composée de quatre quartiers indépendants, située sur la face ventrale de l'animal (Frandsen et al., 2009).

Chacun des quatre quartiers fonctionne en tant qu'entité distincte au sein de la glande mamelle et a son propre tissu sécrétoire du lait. Réceptionnant une grande circulation du sang (400 litres de sang pour produire chaque litre du lait) et chargée avec du lait stocké, la mamelle en lactation peut atteindre souvent un poids de 50-75kg.

Le soutien de ce poids massif est fourni par des ligaments suspensifs, fibreux, denses qui s'insèrent dans le bassin et les tendons de la paroi abdominale. Les ligaments sont répartis latéralement et ventralement sur la mamelle, puis vers l'intérieur pour rejoindre le ligament

médian apparié. Ceux-ci forment une double cloison verticale séparant la glande de gauche de celle de droite (Blowey *et al.*, 2010).

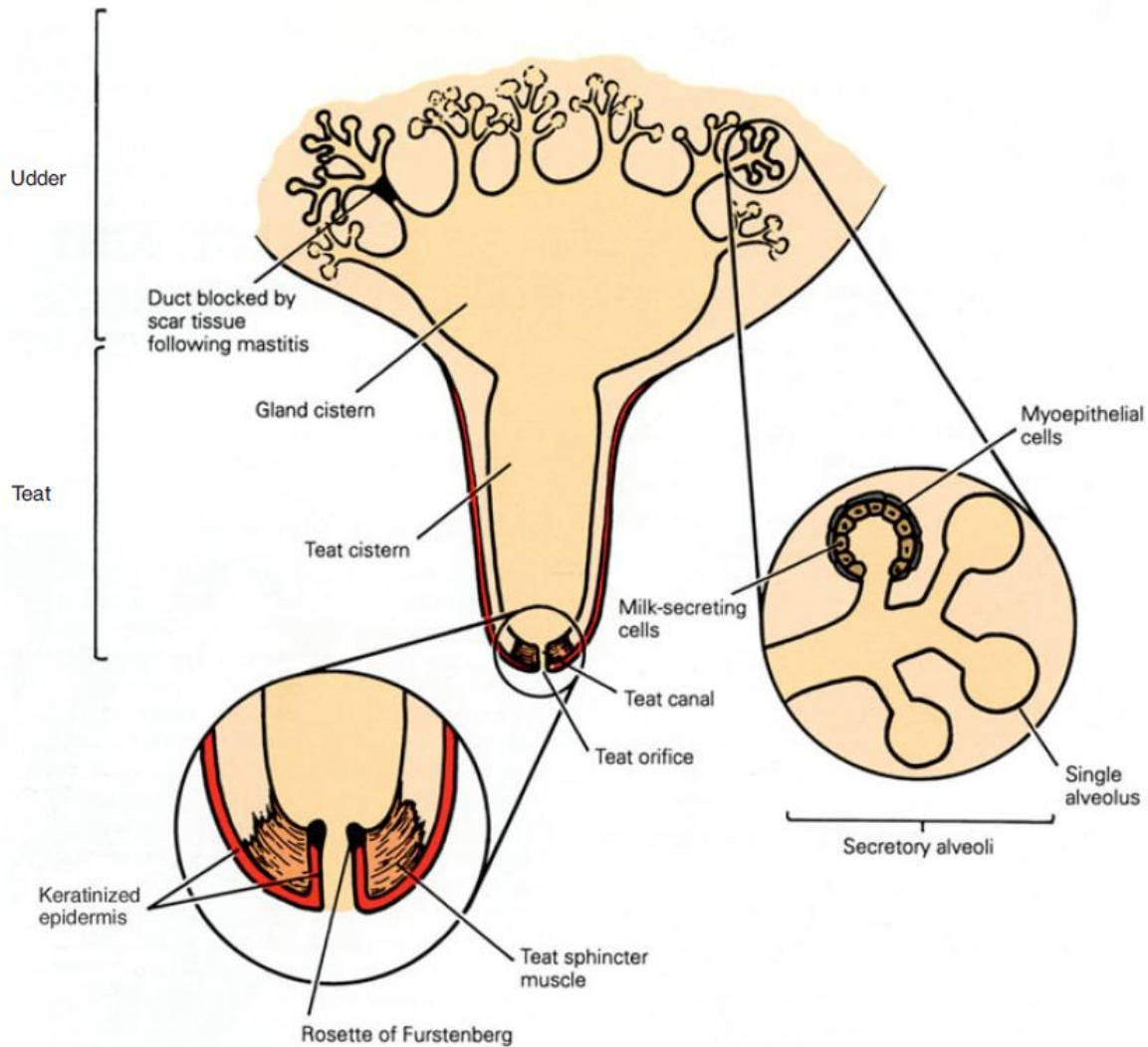
Le ligament médian est trop important. S'il est faible, on aura une mamelle suspendue et des trayons à proximités du sol ; ce qui entrainerait des difficultés pour la traite et, une exposition accrue aux agents pathogènes



**Figure 2. La suspension de la mamelle (Blowey *et al.*, 2010).**

### **I.2.1 Le système alvéolaire**

Le lait est sécrété dans des vésicules appelées alvéoles ou acini. Organisées en grappes, elles sont entourées d'un tissu conjonctif et adipeux très vascularisé appelé stroma. Elles s'ouvrent sur des arborisations canaliculaires : les canaux galactophores qui drainent le lait de son lieu de sécrétion vers la citerne du pis et le trayon. L'alvéole est entouré extérieurement par une trame de cellules myo-épithéliales et intérieurement par une couche de cellules cuboïdales : les lactocytes qui sont le lieu de synthèse du lait. Chaque alvéole irrigue la citerne de la glande via des canaux galactophores (Figure 3). (Frandsen *et al.*, 2009 ; Hanzan, 2015).



**Figure 3. La structure de la mamelle et des trayons (Blowey *et al.*, 2010).**

### **I.2.1.1 Les canaux galactophores**

Les petits canaux galactophores qui drainent chaque alvéole se rejoignent pour former des canaux tertiaires. Ces derniers se rassemblent en canaux secondaires puis primaires qui aboutissent à la citerne de la glande. Des cellules myoépithéliales entourent l'épithélium des canaux et des alvéoles et se contractent sous l'action de l'ocytocine, provoquant l'éjection du lait.

### **I.2.1.2 La citerne de la glande mammaire**

Chaque quartier comprend à sa base une citerne qui renferme un litre de lait environ. La citerne correspond à une dilatation des canaux galactophores en sinus et en poches. Au moment de la traite, 60 % du lait se trouve dans les alvéoles, 20 % dans les canaux et 20 % dans la citerne. La citerne du pis est séparée du sinus du trayon par un repli annulaire renfermant un

---

tissu érectile veineux avec des lymphocytes (plexus veineux proximal ou anneau veineux de Furstemberg). Ce dernier peut surtout en fin de traite constituer un obstacle au passage du lait.

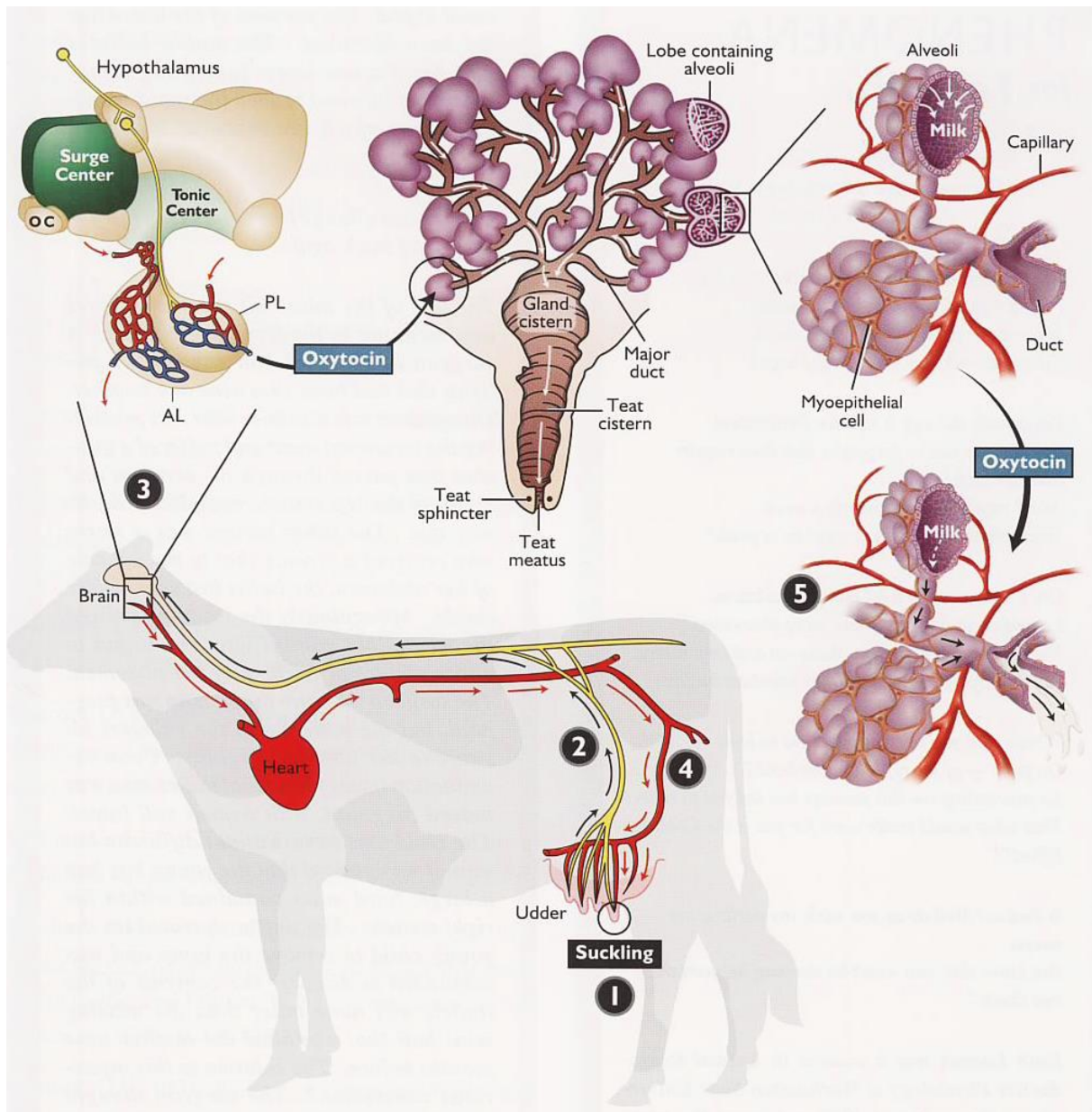
### **I.2.1.3 Les trayons**

À la base de la citerne de la glande mammaire se trouve le trayon (ou pis) par lequel est éjecté le lait. Le trayon représente le premier contact ouvert entre le milieu extérieur et l'intérieur de la glande. À l'extrémité inférieure du trayon se trouve le canal du trayon. Il constitue un élément de résistance important. Les fibres musculaires lisses associées aux fibres élastiques et à celles de collagène se condensent à l'apex du trayon en un sphincter assurant normalement l'occlusion du canal. Il constitue ainsi la première protection de la glande face aux agents pathogènes (Frandsen *et al.*, 2009 ; Hanzan, 2015).

## **I.3 Physiologie de la descente du lait**

Toute stimulation tactile des trayons déclenche immédiatement un influx nerveux en direction du système nerveux central. Une fois stimulée, la posthypophyse libère l'hormone ocytocine. Cette hormone, transportée par voie sanguine, provoque la contraction des cellules myoépithéliales des acini mammaires et l'éjection du lait alvéolaire dans les canaux galactophores puis dans la citerne du pis. Un deuxième réflexe nerveux autonome local qui a pour effet une dilatation des canaux galactophores et du sphincter des trayons, avec augmentation du débit sanguin du pis. L'éjection des premiers jets de lait représente la meilleure stimulation tactile des trayons avant la traite. La descente du lait peut également être déclenchée par des stimuli visuels ou auditifs (vue du veau) (Amstalden *et al.*, 2015).

- 1) Le mécanisme d'éjection du lait est initié par une stimulation (l'allaitement ou la traite).
- 2) Le trayon contient des neurones sensoriels et des impulsions de ces neurones se déplacent à travers les nerfs afférents à l'hypothalamus.
- 3) Les nerfs dans les noyaux para-ventriculaires sont stimulés, et les terminaux dans le lobe postérieur de l'hypophyse libèrent l'ocytocine.
- 4) L'ocytocine pénètre ensuite dans le sang et il est délivré à la glande mammaire.
- 5) Les cellules cibles pour l'ocytocine sont les cellules myoépithéliales qui entourent l'alvéole. La contraction de ses cellules provoque l'impulsion et la sortie du lait à partir des alvéoles vers les petits conduits et ensuite dans les conduits plus larges.



**Figure 4. L'anatomie et la physiologie de l'éjection du lait (Senger, 2005)**

L'effet net de la contraction simultanée des cellules myoépithéliales sur toute la glande mammaire est de fournir du lait pour les gros canaux et la citerne glandulaire de sorte qu'il est disponible pour le retrait par la traite.

## **I.4 La mammite bovine**

### **I.4.1 Définition et conséquences**

La mammite est un état inflammatoire d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle (Hanzen, 2015).

C'est une maladie multifactorielle de la glande mammaire des vaches laitières, qui se produit dans la majorité des vaches au moins une fois par an (Hamann *et al.*, 2010).

---

Elle est causée par des agents physiques ou chimiques. Cependant, la majorité des cas sont infectieux et généralement causés par des bactéries.

Le degré de gravité est clinique ou subclinique, l'évolution est chronique, aiguë ou suraiguë, la terminaison c'est-à-dire la guérison apparente ou réelle ou la mort de l'animal (Markey et *al.*, 2013 ; Hanzan, 2015).

En médecine vétérinaire, la mammite bovine est considérée comme l'une des maladies les plus courantes et économiquement importante affectant les troupeaux laitiers à travers le monde (El-Ashker et *al.*, 2015).

La mammite nuit à la qualité du lait, le bien-être de la vache ; elle conduit à une augmentation des risques de résidus d'antibiotiques, et elle est très ennuyeuse pour les agriculteurs dont la routine de travail est dérangée, et pouvant avoir un effet négatif sur l'image de l'industrie laitière, et possédant des impacts financiers (Lam et *al.*, 2013).

La définition de la mammite repose aussi sur le nombre de cellules somatiques du premier jet de lait du quartier. Les critères de définition de la mammite ont changé à partir d'un seuil de cellules somatiques de 500.000 cellules par ml, avec ou sans détection des agents pathogènes, fixés par la Fédération internationale de l'industrie laitière en 1967, au seuil courant de 100.000 cellules par ml.

Cependant, la limite acceptable du nombre de cellules somatiques dans le lait peut varier en fonction du pays et les exigences des entreprises de transformation du lait (Markey et *al.*, 2013).

#### **I.4.2 Le diagnostic de la mammite**

La détection de la mammite clinique dépend de l'examen de la glande mammaire et sa sécrétion. La quantité et l'aspect du lait changent reflétant une perturbation des fonctions de sécrétion. La glande affectée peut montrer un gonflement, une chaleur, une douleur et / ou une dureté. La sécrétion peut être coagulée, séreuse ou, occasionnellement, tachée de sang.

Il est important que les vaches laitières soient examinées avant chaque traite pour détecter les signes des mammites cliniques. Cela permet que le lait anormal soit jeté et de donner à l'animal touché une thérapie le plus rapidement possible pour réduire les dommages de tissus et donner ainsi des taux de guérison plus élevés, et enfin de minimiser les risques de transfert de l'infection (Andrews et *al.*, 2008).

#### **I.4.3 Symptomatologie de la mammite**

Classiquement, on distingue trois types de symptômes (Hanzen, 2015) :



- **Les symptômes généraux** : on observe des modifications de l'état général telles une perte de l'appétit, une absence de rumination ou de la fièvre. Ce sont les signes d'une intoxication.
- **Les symptômes locaux** : observés au niveau de la mamelle avec des signes de l'inflammation (rougeur, tuméfaction, douleur et chaleur), atrophie d'un quartier.
- **Les symptômes fonctionnels** : traduisant l'atteinte de la fonction de sécrétion et se manifestant par des modifications macroscopiques de la quantité et de la qualité du lait et/ou des modifications microscopiques telles que les concentrations en germes ou en cellules.

#### I.4.4 La gravité de la mammite

Les cas cliniques sont désignés comme légers, modérés ou sévères, correspondant à la présence ou l'absence de signes locaux et systémiques (Tableau 3).

L'enregistrement du score de gravité de chaque cas est utile dans la prévention, l'évaluation et les pratiques de détection, ainsi que les résultats du traitement.

**Tableau 3. le système de notation de la gravité pour la mammite (Royster et al., 2015)**

Le score	La description
Faible	Lait anormal (des caillots, flocons, aqueux)
Modéré	Lait anormal et des signes d'inflammation de la mamelle (la chaleur, gonflement, douleur)
Sévère	Maladie systémique (la fièvre, la déshydratation, la faiblesse, l'inappétence)

#### I.4.5 Syndromes cliniques de la mammite

Selon (Markey et al., 2013) les principaux types de mammites cliniques sont :

- **Suraiguë** : des signes locaux très importants : gonflement, douleur, chaleur et des sécrétions anormale de la glande mammaire sont accompagnés par des signes de perturbation systémique tels que fièvre, la dépression, l'anorexie, faiblesse et un rapide pouls faible. Les signes sont ceux d'une toxémie ou septicémie, elle est d'apparition brutale et d'évolution rapide.

**La mammite gangreneuse** est incluse dans cette catégorie. L'inflammation du quartier infecté est très importante et conduit à la nécrose de celui-ci, après apparition d'un sillon disjoncteur ; le quartier apparaît froid et généralement d'aspect bleuté

- **Aigus** : des changements dans la glande mammaire sont similaires à ceux de la mammite suraiguë mais les signes systémiques sont beaucoup moins sévères.

La mammite sèche ou la mammite « d'été » est incluse dans cette catégorie. Elles touchent le plus souvent les vaches tarées ou les génisses, avec une hyperthermie importante (40°C), le quartier touché est très dur et le lait peut prendre un aspect totalement purulent. Une odeur forte

---

accompagne souvent ce type de mammite et doit alors faire suggérer une infection par *Arcanobacterium pyogenes*.

- **subaiguë** : aucune réaction systémique et les changements dans la glande sont moins marqués ; on observe un lait légèrement séreux, avec présence de grumeaux.
- **chronique** : il n'y a pas de signes systémiques et très peu de signes extérieurs du changement dans la mamelle avec une évolution lente vers l'atrophie du quartier infecté, mais une sécrétion anormale de la glande se produit par intermittence.
- **subclinique** : l'infection de la glande mammaire est détectable seulement par culture bactérienne ou par des tests de comptage des cellules somatiques du lait.

Pour la mammite subclinique un comptage des cellules somatiques dans des échantillons composites de lait (lait des 4 quartiers) de plus de 200.000 cellules / ml est couramment utilisé pour indiquer que l'un ou plusieurs quartiers sont infectés (Royster et al., 2015). Elle ne présente aucun des signes précédemment évoqués : l'état général est parfaitement normal, la mamelle, cliniquement est saine. Ce type de mammite résulte de l'évolution de foyers infectieux au sein du parenchyme, créés par des germes dont l'organisme n'arrive pas à se débarrasser (Hanzen, 2015). Il n'y a pas de changement macroscopique du lait donc elle est asymptomatique.

*Staphylococcus aureus* est connu pour causer un pourcentage élevé (jusqu'à 50% du cheptel) d'infections subcliniques dans les troupeaux laitiers (Markey et al., 2013).

Le stade subclinique peut évoluer pendant très longtemps parfois sur plusieurs lactations et aboutir à une fibrose plus ou moins importante des quartiers atteints (mammite clinique chronique) (Hanzen, 2015).

Néanmoins, l'examen cytologique du lait pendant l'infection subclinique du quartier met en évidence une augmentation parfois considérable du nombre de polynucléaires. De même, son analyse biochimique révèle la présence de modifications parfois très importantes de la composition du lait, qui réduit le rendement en lait et excrète l'organisme infectant.

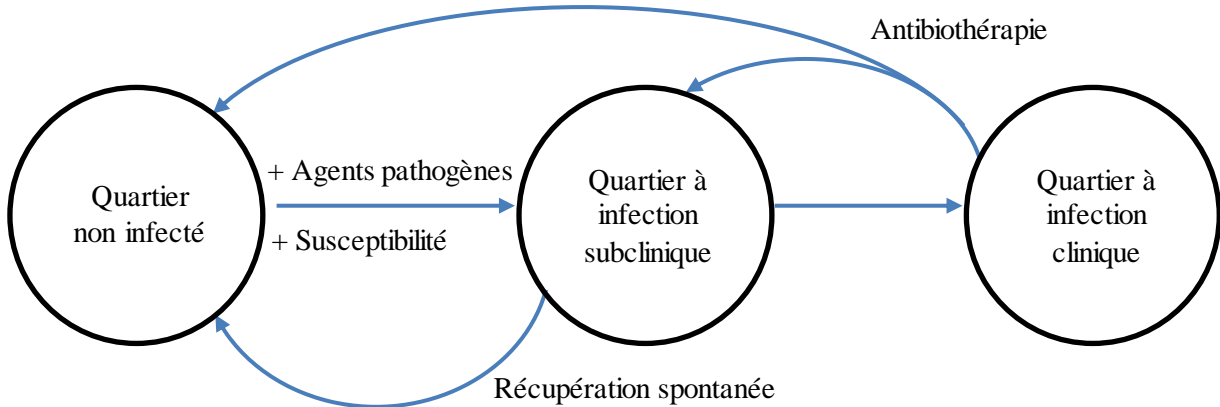
#### **I.4.6 Dynamique de l'infection du troupeau**

La Figure 5 illustre la dynamique de maladie affectant la mamelle au sein du troupeau. Les glandes mammaires peuvent être placées dans l'une des trois catégories : non infectées, une infection subclinique ou une infection clinique. Les proportions relatives des animaux dans ces catégories varient entre troupeaux. Le type de l'agent pathogène influe également sur la dynamique.



Pour par exemple, les infections coliformes ont tendance à devenir rapidement des infections cliniques, tandis que les infections à *Staphylococcus aureus* persistent souvent comme des infections subcliniques pendant des semaines ou des mois (Andrews et al., 2008).

Pour chaque cas de mammite clinique, il y a en moyenne 20 à 40 cas de mammites subcliniques (Hanzen, 2015).



**Figure 5. Motif de l'infection intra mammaire dans un troupeau laitier (Andrews et al., 2008).**

## I.5 Étiologie de la mammite

Le lait cru est utilisé par un grand nombre de familles d'agriculteurs et de travailleurs et par un segment croissant de la population en général qui croit que le lait donne des effets bénéfiques pour la santé (Zeinhom et al., 2014).

Mais en médecine vétérinaire, la mammite bovine est considérée comme l'une des maladies les plus courantes et économiquement importantes affectant les troupeaux laitiers à travers le monde (El-Ashker et al., 2015). La mammite est provoquée par un large spectre d'agents pathogènes qui pénètrent dans le canal du trayon et se multiplient dans la citerne de la mamelle (Carrillo-Casas et al., 2012). Ce large éventail d'organismes comprend : les bactéries, les champignons et les algues (Ferreira et al., 2013).

Toutes les vaches laitières sont exposées à des micro-organismes multiples qui peuvent provoquer une mammite. Pourtant, le niveau de l'exposition montre une grande variation entre les vaches et les troupeaux, en fonction des conditions d'hygiène et l'environnement de la vache (Hamann et al., 2010).

L'importance des principaux pathogènes de la mammite a changé au fil du temps, probablement en raison des changements marqués dans l'industrie laitière, et il varie entre non seulement les pays, mais aussi entre les formes de la mammite. Les mammites subcliniques sont plus répandues que la mammite clinique (Dieser et al., 2014).

### I.5.1 Caractéristique générale

Plus de 150 organismes différents ont été impliqués dans la mammite bovine, la majorité des cas sont causés relativement par un nombre réduit d'espèces (Green et *al.*, 2012).

Les techniques microbiologiques ont permis une détermination précise de l'identité de la plupart des agents pathogènes de la mammite. Basés sur leur épidémiologie et la physiopathologie, ces agents pathogènes ont été classés comme : contagieux, opportunistes de la peau des trayons, et la mammite environnementale (Radostits et *al.*, 2006).

Il est d'usage de désigner la mammite selon l'origine des organismes. La mammite contagieuse est causée par des bactéries qui résident principalement dans la glande mammaire de vaches alors que la mammite environnementale est associée à des micro-organismes qui sont présents dans l'environnement (Tableau 4). Autrefois, la mammite contagieuse représentait pour la plupart des foyers de la maladie (Quinn et *al.*, 2011).

**Tableau 4 . Résumé des principaux agents pathogènes de la mammite bovine et leur classification historique comme contagieuse ou environnementale (Green et *al.*, 2012).**

Les pathogènes Contagieuses	Les pathogènes environnementaux
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Klebsiella spp.
Mycoplasma spp.	Autres entérobactéries
Corynebacterium spp.	
Staphylocoques à coagulase négative	

Chez les agents pathogènes contagieux, l'infection mammaire se transmet d'une vache à l'autre pendant la traite (Kivaria et *al.*, 2007a).

Les pathogènes environnementaux sont ubiquitaires, envahisseurs opportunistes de la glande mammaire ; leur réservoir principal est l'environnement (Schukken et *al.*, 2005).

Bien qu'une telle catégorisation reflète l'épidémiologie de la mammite dans les troupeaux laitiers et les pratiques susceptibles d'être efficaces dans le contrôle des pathogènes particuliers

Au sein d'un troupeau, il y a un nombre croissant de preuves pour suggérer que la situation ne peut être aussi claire comme le pensait auparavant (Bradley, 2002).

En effet, l'épidémiologie des pathogènes de la mammite peut être mieux représentée par une échelle mobile où l'équilibre de la transmission contagieuse et environnementale se déplace progressivement, plutôt que sur la base d'une dichotomie des espèces (Zadoks, 2003).

**Tableau 5 . La mammite bovine : principaux agents étiologiques, source habituelle et types cliniques (Markey et al., 2013).**

Agent étiologique	Source habituelle	Type clinique de la mammite
<i>Staphylococcus aureus</i>	la glande mammaire d'autres vaches, des lésions de la mamelle, la peau et les muqueuses	Subclinique, chronique, aiguë et suraiguë, y compris la mammite gangreneuse. Un pourcentage élevé de porteurs subcliniques peut se produire dans un troupeau
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Intra mammaire dans les canaux galactophores	Aiguë ou chronique avec des cas cliniques récurrents. L'infection peut survenir chez les génisses
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Cavité buccale et des organes génitaux des bovins	Aiguë
<i>Streptococcus uberis</i>	Peau, les amygdales, le vagin, les matières fécales	Aiguë, peut se produire dans la période sèche
<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i>	Fèces, la sciure de bois et d'autres litières. La maladie des vaches logées	'Mammite coliforme'. Suraiguë (toxémie) se produit généralement juste après le vêlage chez les vaches. Menacer le pronostic vital., Les infections aiguës, chroniques et subcliniques peuvent également se produire.
<i>Mycoplasma bovis</i> , <i>M.bovigenitalium</i> , autres espèces des Mycoplasmes	Les voies respiratoires et les muqueuses	Aiguë avec apparition rapide. La plupart grave chez les animaux récemment vèlés. Tous les quartiers souvent affectés. Chute dramatique dans la sécrétion de lait, mais rarement une réaction systémique

De nombreuses espèces bactériennes ont été isolées à partir de cas de mammite bovine clinique et subclinique, mais historiquement les Staphylocoques, les Streptocoques et les bactéries coliformes sont considérés comme les principaux pathogènes de la mammite à l'échelle mondiale (Thomas et al., 2015).

Quelques-uns des nombreux micro-organismes qui peuvent provoquer une mammite bovine sont résumés dans le Tableau 5. La source et le type de syndrome de mammite sont indiqués pour chaque agent pathogène.

---

### **I.5.2 Type des agents pathogènes**

La mammite bovine est associée à de nombreux agents infectieux, généralement divisés en ceux qui causent la mammite contagieuse ; des quartiers infectés, ces agents se répandent à d'autres. Ceux qui sont habitants de la peau normale du trayon et provoquent la mammite opportuniste, et ceux qui causent la mammite environnementale, et sont habituellement présents dans l'environnement de la vache et peuvent atteindre la tétine à partir de cette source (Radostits et *al.*, 2006).

### **I.5.3 Les agents pathogènes de la mammite contagieuse**

La glande mammaire bovine est le principal réservoir d'agents infectieux qui causent la mammite contagieuse. La source de l'infection est généralement une glande mammaire infectée (Quinn et *al.*, 2011). Toutefois, les mains de trayeurs peuvent agir en tant que source de *S. aureus*. Il y a beaucoup de pathogènes pour la mammite contagieuse. Les plus courants sont *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus agalactiae*.

La méthode de transmission prédominante est d'une vache contaminée à l'autre par manque de mesure d'hygiène de traite, le lait résiduel dans des gobelets trayeurs et l'équipement de traite inadapté (Radostits et *al.*, 2006).

Les agents pathogènes de la mammite contagieuses sont caractérisés par leur adaptation à la glande mammaire et de leur propension à causer une infection intra-mammaire persistante, et donc de se propager d'une vache à l'autre au cours du processus de la traite.

*Staphylococcus aureus* est probablement l'agent pathogène contagieux la plus classique et la plus fréquente dans les troupeaux laitiers aujourd'hui et est aussi probablement le plus redoutable à guérir, ce qui entraîne souvent une infection subclinique ou chronique et la nécessité d'abattre la vache touchée (Markey et *al.*, 2013).

La transmission de l'infection se rapporte à des facteurs tels que la capacité d'un pathogène particulier pour survivre à l'hôte.

Parce que les streptocoques et les Mycoplasmes sont sensibles aux influences de l'environnement, ils survivent pour des périodes beaucoup plus courtes en dehors de l'hôte que les Staphylocoques. La sévérité des réponses systémiques locales dans la mammite dépend directement des caractéristiques de virulence de l'agent pathogène (Quinn et *al.*, 2011).

La capacité de se propager sera en fonction à la fois de la possibilité et de la capacité. La capacité est influencée par la dose infectieuse et la durée et la persistance de l'infection intra-mammaire. La possibilité de la propagation contagieuse prospérera avec la durée de l'infection, de l'excrétion accrue et la dose infectieuse minimale (Green et *al.*, 2012).

---

*Mycoplasma bovis* est une cause moins fréquente de la mammite contagieuse ; il provoque des flambées de mammite clinique ne répondant pas au traitement et, qui sont difficiles à contrôler. La plupart des épidémies de *Mycoplasma bovis* sont associées à l'introduction récente de nouveaux animaux dans le troupeau (Radostits et al., 2006).

#### **I.5.4 Les agents pathogènes opportunistes de la peau des trayons**

L'incidence de la mammite clinique légère associée aux bactéries pathogènes qui se trouvent normalement sur la peau du trayon est en augmentation, en particulier chez les troupeaux déjà contrôlés pour les principaux agents pathogènes de la mammite contagieuse.

Traiter les agents pathogènes opportunistes de la peau a la possibilité de créer une infection intra-mammaire par infection ascendante à travers le canal de trayon.

En conséquence, leur épidémiologie d'infections diffère de ceux des agents pathogènes contagieux et environnementaux, et il est utile de les examiner dans une catégorie distincte. Les Staphylocoques à coagulase négative sont les plus communs pathogènes opportunistes de la peau des trayons (Radostits et al., 2006).

#### **I.5.5 Les agents pathogènes de la mammite environnementale**

Les bactéries habituellement présentes dans l'environnement, en particulier *Escherichia coli* et *Streptococcus uberis*, sont les organismes les plus fréquemment isolés à partir de cas de mammite clinique dans de nombreux pays (Quinn et al., 2011). La période de non-lactation a été démontrée pour être d'une importance particulière dans leur épidémiologie (Bradley et al., 2000).

La majorité des infections à *Escherichia coli* se produisent pendant les sept à 10 jours avant le vêlage (Quinn et al., 2011). Les *Escherichia coli* causent très souvent de lourdes inflammations aiguës avec des symptômes cliniques (Ferreira et al., 2013).

De même, certaines souches de *Escherichia coli* ont été mises en évidence à persister en intracellulaire dans les cellules épithéliales mammaires, ce qui provoque des épisodes récurrents de la maladie clinique, tandis que certaines souches de *Staphylococcus aureus* ont été représentées à se comporter de manière plus environnementale (Green et al., 2012).

La contamination de l'extrémité des trayons est un facteur prédisposant majeur pour le développement de la mammite environnementale (Quinn et al., 2011). La source de ces agents pathogènes est l'environnement de la vache. La principale méthode de transmission est l'environnement de la vache par une gestion inadéquate de ce dernier.

Les exemples incluent : la litière humide, les lots sales, traites humides de pis, la préparation inadéquate de l'avant traite pour le trayon et la mamelle, les systèmes de logement

---

qui permettent des blessures aux trayons, et un mauvais contrôle des mouches (Radostits *et al.*, 2006).

Typiquement, la mammite environnementale est de plus courte durée que la mammite contagieuse. En outre, les infections sont susceptibles d'être cliniquement évidentes en particulier celles provoquées par les bactéries coliformes dans lesquelles il peut y avoir des signes cliniques sévères (Quinn *et al.*, 2011).

La mammite causée par *Streptococcus uberis* est particulièrement associée avec une literie de vaches avec de la paille. Lorsque la sciure et les copeaux de bois sont utilisés pour la literie, les espèces *Escherichia coli* sont souvent isolées chez les vaches infectées. Le taux d'infection est généralement plus élevé chez les bovins logés que ceux sur les pâturages bien que *Streptococcus uberis* a été isolé à partir des pâturages intensivement pâturés en chiffres similaires à ceux trouvés dans la litière (Quinn *et al.*, 2011).

Des recherches récentes ont démontré une variation nette dans la capacité de différentes souches de la même espèce de se comporter très différemment ; par exemple, certaines souches de *Streptococcus uberis* sont capable de provoquer une infection intra-mammaire chronique que d'autres qui se comportent d'une manière plus classique de l'environnement (Green *et al.*, 2012).

En revanche, les pathogènes environnementaux de la mammite sont considérés comme des envahisseurs opportunistes à partir d'un réservoir environnemental, l'infection persistante est probablement relativement rare en comparaison avec les agents pathogènes de la mammite contagieuse.

Cependant, dans les troupeaux où les agents pathogènes de la mammite contagieuse classique sont sous contrôle, les agents pathogènes environnementaux peuvent être une cause importante de maladie clinique récurrente (Bradley *et al.*, 2001).

Cependant, dans des conditions de production laitière très modernes, il se peut que la majorité des agents pathogènes de la mammite clinique appartiennent au groupe des bactéries de l'environnement (Hamann *et al.*, 2010).

Ces bactéries sont isolées à partir de la peau, l'extrémité des trayons, où ils peuvent avoir accès à la glande provoquant une infection intra-mammaire.

Il est important de noter que certains facteurs microbiens, hôtes et / ou les facteurs environnementaux peuvent inciter les agents pathogènes environnementaux à se comporter comme contagieux ou vice versa (Pyörälä *et al.*, 2009).

Les Staphylocoques à coagulase négative et *Corynebacterium bovis* sont assez fréquemment isolés à partir d'échantillons de lait. *Corynebacterium bovis* provoque une

---

infection persistante de l'épithélium du canal du trayon et une augmentation légère mais significative de la numération des leucocytes. Parce que *Corynebacterium bovis* est sensible aux désinfectants utilisés pour le trempage des trayons ; il a été suggéré que la présence ou l'absence de la bactérie serait utilisée pour surveiller l'efficacité de la procédure du trempage du trayon dans un troupeau (Markey et al., 2013).

L'évaluation périodique des bactéries associées à la mammite est nécessaire. En effet, jusqu'à récemment, les Staphylocoques à coagulase négatifs ont été considérés comme moins virulents et principalement associée à la mammite subclinique. Pourtant, plusieurs études en Europe et en Amérique du Nord révèlent maintenant que les Staphylocoques à coagulase négatifs peuvent causer la mammite clinique (Kateete et al., 2013).

Les Staphylocoques à coagulase négative sont de faible pathogénicité bien que certaines souches isolées à partir de cas de mammite aient la capacité invasive produisant de la toxine. Ce groupe d'organismes peut provoquer des problèmes avec augmentation du nombre de cellules somatiques dans des troupeaux où d'autres agents pathogènes de la mammite bien contrôlés. Les espèces les plus fréquemment isolées sont *Staphylococcus hyicus* et *Staphylococcus chromogenes*. Il a été suggéré que la présence de staphylocoques à coagulase négative peut être avantageuse pour l'hôte car ils ont tendance à occuper les sites de fixation dans le canal du trayon requis par les Staphylocoques pathogènes à coagulase positive (Markey et al., 2013).

### **I.5.6 Les agents majeurs contre les agents pathogènes mineurs**

Historiquement, ainsi que la classification des agents pathogènes par le comportement épidémiologique, les organismes ont également été classés comme agents pathogènes «mineurs» ou «majeure» (Green et al., 2012).

Les agents pathogènes majeurs (ceux qui causent la mammite clinique) et les agents pathogènes mineurs (ceux qui causent normalement la mammite subclinique et provoquent moins fréquemment la mammite clinique) (Radostitis et al., 2006).

Globalement, les Staphylocoques sont des agents responsables de la mammite les plus courants chez les vaches (Segura et al., 2007).

Ils sont suivis de près par les Streptocoques et *Escherichia coli* dans laquelle certaines espèces ou les paramètres peuvent avoir une fréquence similaire ou plus élevée que celui de la mammite staphylococcique.

Moins fréquemment, d'autres bactéries Gram-positif (*Actinomyces spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Bacillus spp.*, *Mycobacterium spp.*, *Enterococcus spp.*, *Clostridium spp.*) et des bactéries Gram-négatives (*Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus*

---

*spp.*, *Pasteurella spp.*) et des mycoplasmes peuvent être impliqués dans l'étiologie de la mammite. Tous cas de moisissures ou de levures sont rares.

Chez les animaux laitiers, les agents pathogènes causant la mammite sont classés en fonction de leur comportement épidémiologique contagieux et de l'environnement (Contreras et al., 2011).

### **I.5.7 Les agents pathogènes majeurs**

Les germes pathogènes majeurs contagieux comprennent le *Streptococcus agalactiae* et *Staphylococcus aureus* et *Mycoplasma bovis* (Radostits et al., 2006 ; Hanzen 2015).

Les germes pathogènes majeurs d'environnement *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Klebsiella spp* (Hanzen, 2015).

La mammite causée par *S. aureus* est la plupart du temps moins sévère, mais peut éventuellement se transformer en une infection chronique avec une persistance tout au long de la vie de la bactérie.

Certaines infections à *Staphylococcus aureus* peuvent également causer la mammite subclinique sans symptômes cliniques apparents (par exemple, le gonflement de la mamelle, les flocons de lait, de la fièvre) et seulement la détection intermittente des bactéries dans le lait jumelé avec le nombre de cellules somatiques élevées (Petzl et al., 2008).

Le *Streptocoque agalactiae*, c'est un parasite obligé de la glande mammaire. Il est surtout présent dans le lait et les quartiers atteints mais également au niveau des plaies du trayon, et dans le milieu extérieur où il peut persister durant 3 semaines. Avec la *Staphylocoque*, il constitue la principale cause de mammite subclinique. À l'inverse de celle provoquée par le *Staphylococcus aureus*, la durée de l'infection est plus courte. C'est le seul germe qui fait augmenter de manière significative le comptage bactérien du lait (Hanzen, 2015).

Divers mycoplasmes ont été rendus responsables de mammites. *Mycoplasma bovis* est le plus fréquemment isolé. La survie de ces germes est habituellement courte dans le milieu extérieur. Ils peuvent néanmoins persister pendant une semaine dans le matériel de traite et un mois dans les litières. Il existe de nombreux porteurs asymptomatiques. La contamination se fait essentiellement par la traite. Les vaches tarées et en lactation peuvent être atteintes. Les manifestations peuvent être cliniques ou subcliniques (Hanzen, 2015).

Les *Streptococcus* environnementaux comprennent *Streptococcus uberis* et *Streptococcus dysgalactiae*, qui sont les plus répandus ; la moins répandu est *Streptococcus équin* (anciennement dénommé *Streptococcus bovis*).



---

Les coliformes environnementaux comprennent la bactérie Gram-négative *Escherichia coli*, *Klebsiella. spp* et *Enterobacter. spp*, la mammite à *Actinomyces pyogenes* peut être un problème important dans certains troupeaux (Radostits et al., 2006).

Les coliformes ont été classiquement associés à la mammite sévère résultant en des signes systémiques à la suite de libération d'endotoxines.

Cependant, bien que plus susceptibles de provoquer une maladie systémique que les pathogènes Gram-positifs, la grande majorité des mammites à coliformes (>90%) ne se traduisent pas par une maladie clinique suraiguë (Bradley et al., 2001).

### **I.5.8 Les agents pathogènes mineurs**

Les agents pathogènes mineurs sont souvent associés à la colonisation du canal de trayon et sont des commensaux ordinaires de la peau des trayons, il n'est donc pas surprenant qu'ils soient aussi souvent isolés dans des échantillons de lait (Green et al., 2012). Ils causent rarement des mammites cliniques (Radostits et al., 2006). Les agents pathogènes mineurs ont été caractérisés par leur propension à engendrer uniquement une réponse immunitaire douce (Green et al., 2012).

Les Staphylocoques à coagulase négative et *Corynebacterium bovis* sont considérés comme des agents pathogènes mineurs.

Les infections par ces organismes provoquent une inflammation modérée avec un nombre de cellules somatiques supérieures à ceux des glandes non infectées par seulement deux au triple. Les infections pathogènes mineures sont rarement associées aux changements de composition, ou une diminution spectaculaire de la production de lait (Harding et al., 1995).

Les Staphylococcus à coagulase négative, tels que *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus chromogènes*, sont généralement isolés à partir d'échantillons de lait et le canal du trayon. *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus sciuri* sont trouvés dans l'environnement ; *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus simulans* et *Staphylococcus epidermidis* font partie de la flore normale de la peau du trayon (et sont des pathogènes opportunistes de la peau du trayon). La prévalence de Staphylocoques à coagulase négative est plus élevée chez les génisses en première lactation que les vaches, et plus immédiatement après le vêlage que dans le reste de la lactation.

*Corynebacterium Bovis* est également un agent pathogène mineur ; il est faiblement pathogène et le réservoir principal est la glande ou le canal du trayon infecté. Toutefois, dans certains troupeaux, *Corynebacterium Bovis* semble être une cause commune de la mammite clinique légère. La présence de *Corynebacterium Bovis* dans une glande permettra de réduire la probabilité d'une infection subséquente avec *Staphylococcus aureus* (Radostits et al., 2006).

L'importance des agents pathogènes mineurs dans la susceptibilité à l'infection par un agent pathogène majeur de la mammite est une zone mal comprise, avec un certain nombre de documents qui présentent des résultats contradictoires (Huxley et al., 2003).

Le raisonnement derrière le rôle des agents pathogènes mineurs est qu'ils peuvent réduire la probabilité d'une super-infection par un agent pathogène majeur, soit directement par l'exclusion compétitive ou indirectement par élévation de la concentration des cellules somatiques (Green et al., 2012).

Le rôle des agents pathogènes mineurs comme des causes importantes de l'infection intramammaire et la mammite clinique est vivement débattue.

Alors que dans certains pays, les Staphylocoques à coagulase négative sont associés à la maladie clinique (notamment en Scandinavie) dans d'autres pays leur rôle est équivoque.

En revanche, Piepers et al., (2011) n'ont constaté que les génisses infectées par les Staphylocoques à coagulase négative en début de lactation ne cause pas l'infection du troupeau.

### **I.5.9 Les agents pathogènes rares de la mammite**

Les cas individuels ou des flambées sporadiques de mammite sont causées par *Pseudomonas spp.*, *Actinomyces pyogenes*, *Serratia spp.*, ou d'autres agents pathogènes inhabituels (Harding et al., 1995).

Beaucoup d'autres bactéries peuvent causer la mammite sévère, qui est généralement sporadique et affecte habituellement seulement une vache ou quelques vaches dans le troupeau. Ceux-ci comprennent *Nocardia spp.*, *Pasteurella multocida*, *Campylobacter jejuni* et d'autres bactéries Gram-négatives, y compris *Citrobacter spp.*, *Enterococcus spp.*, *Proteus spp.*

Les bactéries anaérobies ont été isolées à partir de cas de mammite, généralement en association avec d'autres bactéries facultatives, par exemple, *Clostridium sporogenes* et *Fusobacterium necrophorum*.

Les infections fongiques comprennent *Trichosporon spp.*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans.*, les infections à levures comprennent *Candida spp.*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces neoformans. spp.*

Les Infections par les algues comprennent *Prototheca trispora* et *Prototheca zopfii*. *Leptospiras*, y compris, *Leptospira interrogans sérovar. Pomona*, et surtout *Leptospira interrogans hardjo*, causent des dommages aux vaisseaux sanguins dans la glande mammaire et d'anormalité brute du lait. Ils sont plus correctement classés comme maladies systémiques avec des manifestations de la glande mammaire.

Certains virus peuvent aussi causer la mammite chez les bovins, mais ils sont de peu d'importance (Radostits et al., 2006).

Nous concluons qu'est trop simpliste de considérer la glande mammaire bovine comme un environnement aseptique. La mamelle, en tant que surface muqueuse avec une communication directe avec l'environnement extérieur, aura été contestée par des micro-organismes pour des millions d'années et alors que certains organismes sont devenus des agents pathogènes et uniques, adaptée à combler cette niche écologique ; d'autres peuvent avoir adopté un rôle plus bénin de type commensal. Alors que l'on aurait raisonnablement espérer les profondeurs de la glande mammaire d'être « stériles », il est raisonnable de s'attendre à une « flore normale » d'être présente à la périphérie de la glande (le trayon).

Un défi important réside dans la compréhension du rôle de ces organismes, leur impact sur les mesures de la santé du pis et donc la définition d'une glande mammaire saine.

L'avenir de la lutte réside probablement dans le maintien d'un équilibre sain plutôt que d'essayer de « bombarder » la mamelle avec des antibiotiques (Green et al., 2012).

## **I.6 La mammite Staphylococcique chez les vaches laitières**

En élevage laitier, la mammite représente un défi important.

La mammite subclinique est la forme prédominante dans l'apparition et les Staphylocoques sont les principaux agents étiologiques en raison de la fréquence et la large diffusion (Zuniga et al., 2015).

Bien que *Staphylococcus aureus* ait été décrit comme l'un des agents pathogènes de la mammite les plus importants chez les bovins, les Staphylocoques à coagulase négative sont de plus en plus reconnus comme agents étiologiques associés aux infections intra mammaires dans la plupart des pays (Taponen et al., 2009).

### **I.6.1 Taxonomie**

Le nom *Staphylococcus* est dérivé du grec en : *staphylo* (grappe de raisin) et *coccus* (un grain ou de baies), donc *Staphylococcus* (Carl, 2014).

*Staphylococcus* est classé dans le groupe des *Bacillus-Lactobacillus-Streptococcus* des bactéries Gram-positives avec une faible teneur en GC (Bannerman et al., 2007). Le genre *Staphylococcus* est maintenant classé dans une nouvelle famille *Staphylococcaceae*, ordre *Bacillales*, classe les bacilles.

Il est un organisme non-motile, sphérique, non-sporulée. Il est anaérobie facultatif, catalase-positif, oxydase-négatif et peut se développer dans 10% de NaCl.

Le peptidoglycane de la paroi cellulaire est sensible à la lysostaphine et résistant au lysozyme (Foster et al., 2015).

Les Staphylocoques sont des cocci Gram positif ayant un diamètre moyen de 0,8 à 1 µm, qui ont tendance à être disposés par paires, tétrades, ou plus souvent groupés en amas irréguliers ou des « grappes » (Markey et al., 2013).

Les Staphylocoques comprennent 45 espèces et 21 sous-espèces (Hosseinzadeh et al., 2014). Les infections à Staphylocoques sont souvent aiguës et pyogènes (Markey et al., 2013).

La différenciation entre les Staphylocoques virulents et celle des flores commensales normales a longtemps dépendu de la production de la coagulase et ce depuis de nombreuses années faisant partie de l'arsenal diagnostique des microbiologistes (Curtis et al., 2015).

Le genre est subdivisé en Staphylocoques à coagulase positive et Staphylocoques à coagulase négative sur la base de leur capacité à coaguler le plasma (Thorberg et al., 2009). Le test de la coagulase est généralement en corrélation avec la pathogénicité (Markey et al., 2013).

*Staphylococcus aureus* est un agent pathogène zoonotique ubiquitaire d'un intérêt particulier pour la médecine vétérinaire (El-Ashker et al., 2015).

Les inquiétudes sur la mammite à *Staphylococcus aureus* ne sont pas uniquement limitées à l'espèce bovine. En effet, l'agent pathogène peut être une source d'intoxication alimentaire en raison de sa capacité à produire des entérotoxines qui peuvent encore être active après traitements thermiques (Scali et al., 2015).

Plus de 15 espèces des Staphylocoques à coagulase négative ont été identifiées de cause les infections intra mammaires chez les vaches laitières, mais *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hyicus*, et *Staphylococcus haemolyticus* sont les plus couramment Staphylocoques à coagulase négative isolés de mammites bovines (Thorberg et al., 2009).

Des études ont montré que les Staphylocoques à coagulase négative isolé à partir de sécrétions mammaires bovines se composent en outre d'autres espèces, y compris *Staphylococcus warneri* et *Staphylococcus sciuri* (Gillespie et al., 2009).

Les Staphylocoques à coagulase négative sont les organismes les plus souvent isolés à partir d'échantillons de lait dans les troupeaux utilisant des procédures efficaces de contrôle de la mammite. Les Staphylocoques à coagulase négative les plus couramment isolés font partie de la flore normale de la peau et comprennent *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus chromogenes*, et *Staphylococcus epidermidis*.

*Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus sciuri* et *Staphylococcus cohnii* vivent librement dans l'environnement. Les Staphylocoques à coagulase négative semblent être opportunistes et infectent le canal du trayon et la glande mammaire à partir de sources de la peau ou de l'environnement (Oliver et al., 2004).

Cependant, leur pertinence clinique est pathogène lorsqu'ils sont cultivés à partir du lait. Cela reste un point de discussion. Certains les considèrent comme de véritables agents pathogènes de la mammite avec d'importants facteurs de virulence, et la capacité de provoquer des infections chroniques. D'autres les considèrent comme des agents pathogènes mineurs chez les vaches laitières (Supré et *al.*, 2011).

Des études plus récentes suggèrent que les infections avec les Staphylocoques à coagulase négative peuvent causer un préjudice plus grave à ce que l'on pensait avant. Une grande variabilité impliquerait que chez certaines vaches et des troupeaux, les infections des Staphylocoques à coagulase négative pourraient jouer un rôle majeur dans la santé de la mamelle et la qualité du lait (Schukken et *al.*, 2009). Les Staphylocoques à coagulase négative devraient, cependant, être considérés comme des agents pathogènes de la mammite et pas seulement des microbiotes du canal de trayon (Taponen et *al.*, 2009).

### **I.6.2 La pathogénicité et la Pathogenèse**

Comprendre les facteurs impliqués dans la pathogenèse de la mammite par les Staphylocoques est d'une importance énorme, car cela permet une orientation améliorée des mesures de contrôle (Zuniga et *al.*, 2015).

La capacité des Staphylocoques pathogènes à causer une multitude d'infections est probablement due à l'expression de diverses toxines, des facteurs de virulence et des protéines d'adhérence à la paroi cellulaire. La bactérie a la capacité de survivre à la phagocytose dans le pis et provoque souvent une inflammation chronique (El-Ashker et *al.*, 2015).

La toxine alpha (alpha-hémolysine) est associée à la mammite gangréneuse chez les bovins. Cette toxine est une toxine porogène et provoque des perturbations lysosomales dans les leucocytes et influe également sur le muscle lisse, ce qui conduit à une constriction, une paralysie et finalement une nécrose des cellules musculaires lisses des parois des vaisseaux sanguins, entraînant une coagulation et une nécrose ischémiques des tissus adjacents. Le quartier affecté devient violet et froid et finira par se dépouiller, si l'animal survit à la toxémie (Markey et *al.*, 2013).

La protéine A est une protéine de surface polymorphe considérée comme l'un des facteurs les plus importants pour la virulence de *Staphylococcus aureus* (Zecconi et *al.*, 2006).

La protéine A, se lie au fragment cristallisable (Fc) à la région de l'IgG et peut jouer un rôle dans la pathogenèse des maladies Staphylococciques (Markey et *al.*, 2013).

La protéine A est ancrée à la paroi cellulaire par sortase où elle inhibe la liaison opsonophagocytose de la région Fc d'IgG. Lorsqu'elle est libérée de la cellule, elle circule dans tout le corps et se lie aux déclencheurs de l'activation des lymphocytes B. Cela pourrait

expliquer pourquoi la mémoire déclenchée après exposition à *Staphylococcus aureus* est insuffisante pour protéger contre la réinfection (Foster et al., 2015).

**Tableau 6. Les principaux facteurs de virulence des Staphylocoques pathogènes en médecine vétérinaire (Markey et al., 2013).**

Les facteurs de virulences	Fonctions
Le coagulase libre (protéine extracellulaire)	L'adhérence à la prothrombine, transforme le fibrinogène en fibrine
La protéine A	L'adhésion au fragment Fc de l'immunoglobuline G, inhibe la phagocytose
La protéase	L'hydrolyse des protéines
Les entérotoxines (A, B, C, D, E et F)	Neurotoxines avec une activité superantigène sur les lymphocytes T : vomissements, diarrhée, choc
Les hémolysines (alpha, bêta, delta, gamma)	La lyse des globules rouges. La toxine alpha est une toxine formant des pores, et peut également avoir un rôle dans l'évasion du phagosome intracellulaire de <i>S. aureus</i>
Les lipases et les phospholipases	L'activité enzymatique sur les lipides et les phospholipides
Le déoxyribonucléase	Exotoxine qui hydrolyse l'ADN
La staphylokinase	L'adhérence à la plasminogène et la transforme en plasmine qui a une activité fibrinolytique et protéolytique. Aides à la diffusion et de la nutrition
Le syndrome de choc toxique (TSST-1)	Toxine 1 Activité superantigénique
La coagulase liée	L'adhésion au fibrinogène
La leucocidine	La lyse des leucocytes
La capsule	Inhibe la phagocytose
Les bêta-lactamases	L'hydrolyse du cycle bêta-lactame des pénicillines
L'hyaluronidase	Facteur de diffusion, l'hydrolyse de la matrice extracellulaire
Le glycocalyx (exopolysaccharides)	Inhibe la phagocytose
Les protéines de surface	L'adhésion à la fibronectine, le collagène, la vitronectine
La toxine exfoliative A et B	La dermatite pustuleuse
La staphyloferrin B	Sidérophores
Les bactériocines (Staphylococcine)	Inhibition des bactéries à Gram négatif

Suite à l'entrée dans la glande mammaire, les adhésines telles que la protéine A et les protéines de liaison au fibrinogène sont susceptibles d'être importantes dans l'adhésion aux cellules épithéliales mammaires (Castagliuolo et al., 2006).

La leucocidine détruit les neutrophiles et les macrophages chez les bovins.

Les enzymes comprennent la staphylokinase qui est un activateur de plasminogène ; le coagulase ce qui provoque la coagulation du plasma *in vitro* ; l'hyaluronidase (« facteur

---

d'étalement ») ; la lipase ; la collagénase ; la protéase ; la nucléases et l'uréase, peuvent toutes avoir un rôle dans la pathogenèse des infections staphylococciques.

Le Tableau 6 énumère les principaux facteurs de virulence des Staphylocoques pathogènes.

*Staphylococcus aureus* a une vaste gamme de facteurs de virulence, ce qui peut aider à la surmonter ou l'échapper des défenses immunitaires de l'hôte et d'augmenter la sévérité des infections (Scali et al., 2015).

Des études de facteurs de virulence des Staphylocoques à coagulase négative sont rares, et certaines espèces des Staphylocoques à coagulase négative peuvent posséder des facteurs de virulence semblables à *Staphylococcus aureus* tandis que d'autres n'en peuvent pas (Taponen et al., 2009).

Mais *Staphylococcus chromogenes* a été signalé pour provoquer la plus sévère mammite que les autres Staphylocoques à coagulase négative (Capurro et al., 2009).

Les souches des Staphylocoques à coagulase négative produisent également plusieurs toxines et des enzymes qui pourraient contribuer à la virulence, comme hémolysine, leucocidine, lipase, protéases, et DNase. Les infections dues aux staphylocoques à coagulase négative des tissus mammaires présentaient une plus grande infiltration de leucocytes et l'augmentation de stroma du tissu conjonctif (Zhang et al., 2000).

Il a fallu attendre les années 1960 pour que les staphylocoques à coagulase négative, mannitol négatif et DNase-positifs aient été isolés à partir du matériel clinique (Curtis et al., 2015).

### **I.6.3 Identification**

Sur la gélose au sang, *Staphylococcus aureus* se forment des colonies qui sont généralement pigmentées jaunes, lisses, toutes soulevées et hémolytiques (Foster et al., 2015).

Le plus souvent, la différenciation entre les espèces des Staphylocoques à coagulase négative est basée sur la morphologie et les propriétés biochimiques (Devriese et al., 1985).

Ces méthodes pourraient toutefois être difficiles à réaliser, ce qui pourrait conduire à l'utilisation de kits d'identification commerciaux facilement disponibles (Thorberg et al., 2009).

Le test de la coagulase en tube, est un test dans lequel une colonie inoculée dans le plasma de lapin provoque la coagulation à se produire dans les 4 heures ; la capacité de coagulase pour stimuler la formation de caillots dans le plasma est une propriété définissant de *Staphylococcus aureus* qui a été connue pour plus de 100 ans (Foster et al., 2015).

D'autres espèces de *Staphylococcus*, y compris le *Staphylococcus hyicus*, peuvent également être coagulase positive (Devriese et al., 2005).

---

La présence d'une activité de DNase est souvent utilisée comme un substitut marqueur pour l'identification des Staphylocoques à coagulase positive et en particulier de *Staphylococcus aureus* dans des échantillons de lait (Boerlin et al., 2003).

La disponibilité impressionnante de facteurs de virulence comme force de *Staphylococcus aureus* ; facilite l'apparition de la mammite chronique (Scali et al., 2015). Ces infections souvent ne répondent pas à la thérapie de routine (El-Ashker et al., 2015).

Une variété de tests commerciaux d'agglutination au latex et des tests d'hémagglutination, qui détectent la protéine A, le facteur de l'agglutination (Clumping factor) et d'autres antigènes de surface sont disponibles, tels que le test d'agglutination au latex Staphylect Plus (Oxoid).

Des systèmes de tests commerciaux manuels et automatisés qui incorporent les tests classiques pour la fermentation, l'oxydation, la dégradation et à l'hydrolyse de substrats telles que le système API Staph (BioMérieux) et les systèmes automatisés qui peuvent rapidement identifier les organismes au niveau de l'espèce et dans certains cas, l'intégration de tests de sensibilité aux antibiotiques (le système automatisé Vitek 2 de BioMérieux) (Foster et al., 2015).

Cependant ces systèmes d'identification phénotypique des espèces de Staphylocoques (y compris les systèmes classiques et les tests d'identification commerciale) ; en général entravés par le fait qu'ils sont dépendants de l'expression d'activités métaboliques ou des caractéristiques morphologiques et ne sont généralement pas aussi précis que les méthodes génotypiques (Jousson et al., 2007).

Dans la dernière décennie, de nombreuses techniques moléculaires ont été développées et utilisées pour l'identification et la comparaison des isolats de *Staphylococcus aureus* dans des études épidémiologiques.

Parmi ces méthodes, le typage du gène coagulase a prouvé être un moyen simple et efficace pour identifier les coagulases positives d'isolats de *Staphylococcus aureus* animales (Momtaz et al., 2011).

Le typage du gène *coa* a été considéré comme simple, exact, suffisamment reproductible, spécifique, facile à interpréter et une méthode discriminatoire pour le typage de *Staphylococcus aureus* isolé des sources distinctes (Saei et al., 2009).

L'identification de *Staphylococcus aureus*, en utilisant l'amplification par PCR du gène *nuc*, est considérée comme une méthode d'étalon de choix. Le gène *nuc* code pour l'enzyme de thermonucléase et l'amplification du gène *nuc* est le potentiel pour le diagnostic rapide de l'infection à *Staphylococcus aureus* (Ali et al., 2014).



---

#### **I.6.4 La mammite aux staphylocoques à coagulase négative protège-t-elle le quartier par rapport à d'autres infections ?**

Certains auteurs suggèrent que les quartiers infectés par les agents pathogènes mineurs (Les Staphylocoques à coagulase négative) seraient plus résistants aux infections naturelles ultérieures dues aux agents pathogènes majeurs (Lam *et al.*, 1997).

D'autre part, ils sont ainsi considérés comme des micro-organismes potentiellement intéressants pouvant protéger les quartiers contre les infections intra mammaires avec des agents pathogènes plus nocifs qui provoquent des infections intra mammaires ou colonisent le trayon bovin (Supré *et al.*, 2011). Ils sont présents en abondance sur les sommets des trayons et l'environnement des vaches (Taponen *et al.*, 2008).

En revanche, Compton *et al.*, (2007a) ont montré que l'infection intra mammaire du pré-vêlage, par des agents pathogènes environnementaux, affecte l'immunité de l'hôte et augmente le risque des mammites subcliniques dans la période du post-vêlage.

De Vlieghe *et al.*, (2004) ont démontré que la colonisation du sommet du trayon par *Staphylococcus chromogenes* dans la période du pré-partum chez les génisses laitières protège le quartier de la mamelle contre l'augmentation des cellules somatiques au début du post-partum et inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus*.

De même Piessens *et al.*, (2011) suggère que les Staphylocoques à coagulase négative protègent les génisses en début de lactation.

Les mécanismes possibles de cet effet pourraient être dus à la production des peptides ribosomiaux comme la bactériocine, qui a un effet inhibiteur contre les bactéries (Coelho *et al.*, 2007).

#### **I.7 Les mécanismes de défense mammaire**

Les mammites chez les bovins sont le plus souvent d'origine bactérienne. Ainsi, il en résulte une compétition entre les défenses de la mamelle et l'agent bactérien en cause. De cette lutte résultera la guérison ou l'infection qui peut, dans certains cas, persister à bas bruit donnant lieu à des individus asymptomatiques.

##### **I.7.1 Les défenses anatomiques**

La structure anatomique de la glande mammaire est la première ligne de défense contre l'invasion des microorganismes pathogènes. L'infection survient lorsque les bactéries sont capables de gagner l'entrée de la glande mammaire via le canal du trayon. Pour cette raison, l'extrémité du trayon est considérée comme la première ligne de défense contre les agents pathogènes envahisseurs (Sordillo, 2005).

Normalement, le canal du trayon est hermétiquement fermé par le muscle du sphincter, ce qui empêche l'entrée d'agents pathogènes. Elle est bordée de kératine, du matériau cireux dérivé de l'épithélium malpighien qui a des propriétés antimicrobiennes, tels que les acides gras à longue chaîne, qui aident dans la lutte contre l'infection (Viguiet *et al.*, 2009).

### I.7.2 Les défenses cellulaires

Lorsque les bactéries pénètrent dans le sphincter et le canal du trayon, la deuxième ligne de défense est le système immunitaire de l'animal qui se compose de neutrophiles, macrophages et des lymphocytes (facteurs cellulaires). Le tissu de la glande mammaire est protégé par deux formes des mécanismes de défense immunitaire : l'immunité innée et l'immunité acquise. Les systèmes immunitaires innés et acquis, interagissent étroitement dans une tentative pour fournir une protection contre les micro-organismes de l'infection mammaire (Oviedo-Boyso *et al.*, 2007).

Les macrophages, les polynucléaires neutrophiles (PNN) et les cellules T représentent les populations cellulaires de la glande mammaire saine. Ces cellules sont aussi appelées des cellules somatiques par opposition aux germes exogènes. Dans les sécrétions de la glande mammaire saine, les cellules prédominantes sont les macrophages. On suppose que ces populations de cellules "résidentes" sont bénéfiques pour les vaches laitières, puisque les macrophages de lait sont en principe susceptibles d'initier la réponse inflammatoire en phagocytant le pathogène. Après la phagocytose des bactéries, les macrophages sont capables de sécréter des facteurs qui sont chimiotactiques (cytokines) pour les neutrophiles du sang, et vont favoriser leur recrutement vers le site de l'infection (Rainard *et al.*, 2003).

**Tableau 7. Types cellulaires rencontrés dans la glande mammaire saine et infectée (Boutet *et al.*, 2006).**

Quartiers	TCSL (cellules/ml de lait)	CC (%)			
		Mac	Neu	Lym	CEP
Quartier sain	< 200 000	66-88	0-11	10-27	0-7
Quartier infecté	> 200 000	9-32	50-95	14-24	0-9

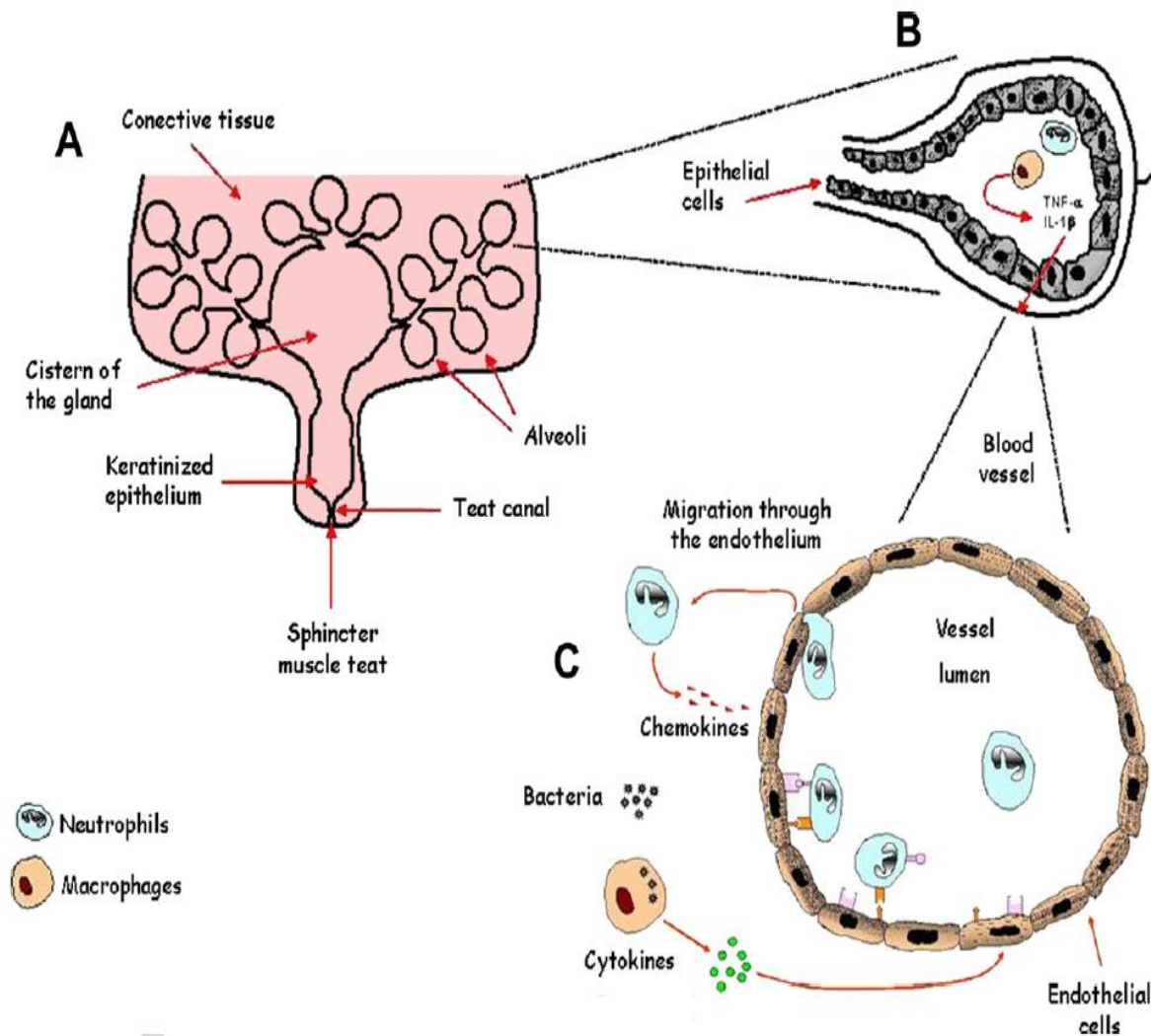
**TCSL** : Taux de cellules somatiques du lait ; **CC** : Composition cellulaire ; **Mac** : Macrophages ; **Neu** : Neutrophiles ; **Lym** : Lymphocytes ; **Cep** : Cellules Epithéliales.

Les cellules épithéliales de la glande mammaire, qui sont la première ligne, pourrait démarrer la réaction inflammatoire très tôt après la pénétration des bactéries dans le lait, la stimulation de l'épithélium par les bactéries, est soit par contact direct (adhésion) ou via les métabolites irritants ou les toxines. Les cellules épithéliales réagissent en synthétisant la chimiokine, une molécule douée avec des propriétés chimiotactiques pour les neutrophiles, et en considère que ces cellules effectrices de l'immunité non spécifique (Rainard *et al.*, 2003).

En plus du pouvoir phagocytaire dans le site de l'infection, les neutrophiles contiennent de nombreux granules cytoplasmiques, ces granules contiennent la majorité de protéine dotée d'activité antimicrobienne (les défensines), présentent une activité bactéricide contre de nombreuses bactéries gram-positif, Gram négatif (Paape, 2003).

Ainsi, la migration élevée des cellules du système immunitaire pour combattre l'infection provoque par inadvertance l'inflammation de l'épithélium alvéolaire et rendre ces cellules non sécrétoires. L'activité des fibroblastes est stimulée, et l'augmentation subséquente des dommages simultanée auprès de l'épithélium alvéolaire conduit à sa régression et à déprimer l'activité sécrétoire et à la stase du lait (Akers et *al.*, 2011).

Le système immunitaire inné représente la première ligne de défense dans la réponse de l'hôte à l'infection et il est prêt immédiatement à reconnaître et à répondre aux premiers stades de l'infection. En outre, il est capable de répondre à des agents pathogènes non rencontrés auparavant. Cette réponse est conduite par l'aptitude des récepteurs membranaires différents à reconnaître les composantes de la paroi cellulaire des bactéries comme les lipopolysaccharide (LPS), le peptidoglycane (Bannerman et *al.*, 2004).



**Figure 6. Schéma de la glande mammaire bovine montrant les facteurs anatomiques les plus importants qui agissent comme des barrières de défense (Oviedo-Boyso *et al.*, 2007).**

**A.** Le muscle du sphincter des trayons représente la première ligne de défense, tandis que l'épithélium kératinisé de la citerne du trayon est considéré comme la deuxième ligne.

**B.** Facteurs solubles et cellulaires qui participent à la réponse immunitaire innée de la glande mammaire. Les macrophages se trouvant dans les alvéoles phagocytent les bactéries qui pénètrent dans la citerne de la glande mammaire. Les macrophages activés libèrent des cytokines

**C.** Les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins adjacents aux alvéoles expriment des molécules d'adhésion, en réponse à des cytokines pro-inflammatoires ; ce qui facilite le recrutement des neutrophiles de sang vers le site de l'infection, afin d'éliminer les bactéries envahissantes.

### I.7.3 Les défenses solubles

Le complément est un autre composant de l'immunité innée et se compose d'un ensemble de protéines présentes dans le sérum et le lait. Les protéines qui constituent le système du complément sont synthétisées principalement par les hépatocytes. Les concentrations de complément sont les plus élevées dans le colostrum, et les glandes mammaires enflammées (Aitken *et al.*, 2011).

---

Selon Rainard (2003) le complément peut contribuer à la phagocytose par trois étapes :

- L'opsonisation des bactéries, par dépôt à la surface des bactéries des fragments reconnus par des récepteurs sur les phagocytes.
- L'attraction des phagocytes par des complexes qui exercent une activité chimiotactique.
- Activités bactéricides directes par le dépôt des complexes porogènes sur la surface des bactéries.

En revanche le complément n'est généralement pas considéré comme un système antimicrobien significatif dans le lait de bovin à cause de ses concentrations faibles (Rainard, 2003).

La lactoferrine est une glycoprotéine reconnue dans le lait, et d'autres sécrétions épithéliales (Chaneton et *al.*, 2008). Synthétisée par les cellules de l'épithélium glandulaire de la glande mammaire (Molenaar et *al.*, 1996). Principalement reconnue comme une protéine bactériostatique et bactéricide grâce à sa capacité à chélater le fer ou à se lier à la surface bactérienne. En conséquence, la lactoferrine est considérée comme un facteur pertinent dans les mécanismes de défense innée de la glande mammaire contre les infections intra mammaires (Chaneton et *al.*, 2008).

En plus la lactoferrine avec son effet antibactérien, peut être utilisée à faible concentration en combinaison avec plusieurs antibiotiques. L'observation la plus frappante est que cette glycoprotéine augmente l'activité inhibitrice de pénicilline de 4 à 16 fois chez *Staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline (Laçasse et *al.*, 2008).

La  $\beta$ -lactoglobuline est une autre protéine qui est présente dans la plupart des mammifères, mais est absente chez les humains. Cette protéine posséderait un effet inhibiteur sur la croissance de *Staphylococcus aureus* (Chaneton et *al.*, 2011).

L'efficacité de la barrière du système immunitaire innée est non seulement déterminée si des nouvelles infections mammaires se produisent, mais influe également sur la gravité et la durée de la mammite en agissant sur la nature de la réponse immunitaire adaptative (Aitken et *al.*, 2011).

Si un agent pathogène est capable d'échapper ou n'est pas complètement éliminé par le système de défense inné, le système immunitaire spécifique ou acquis est déclenché. Il est responsable de reconnaître les déterminants antigéniques spécifiques d'un agent pathogène, et de la mémoire de l'hôte infecté.

Dans le cas où l'hôte devrait rencontrer le même antigène plus d'une fois, un état accru de réactivité immunitaire se produirait en conséquence de la mémoire immunologique. Dans cette

---

étape il y'a une prolifération de lymphocytes B qui produise les anticorps contre les pathogènes envahisseurs (principalement IgG et IgM dans le cas de la mammite bovine), en utilisant leurs récepteurs cellulaires spécifiques de surface pour reconnaître les agents pathogènes.

Dans la glande mammaire, il est nécessaire que les deux systèmes immunitaires (inné et acquis) doivent être hautement interactifs et coordonnés afin de fournir une protection optimale pour la glande mamelle (Sordillo et *al.*, 2002).

## **I.8 Le diagnostic de la mammite**

Il est important que le lait, en tant que produit alimentaire, soit soumis à des tests de diagnostic et de qualité à tous les stades de la production de la vache à la tasse. Les tests de diagnostic de la mammite actuellement couramment utilisés dans la ferme sont effectivement des tests de détection plutôt que de diagnostic (Green et *al.*, 2012).

Un diagnostic précoce est d'une importance capitale en raison des coûts élevés de la mammite. La législation de l'Union européenne (Règlement 853/2004) souligne que le lait sélectionné à la consommation humaine doit provenir d'animaux en bonne santé (Viguiier et *al.*, 2009).

### **I.8.1 Détection de la mammite**

Inspection de lait pour anomalie est une obligation légale dans de nombreux pays à travers le monde. Dans sa plus simple détection de la mammite commence par l'observation visuelle (Green et *al.*, 2012).

Il serait souhaitable que l'apparition des sécrétions mammaires puisse identifier les infections intra-mammaires, mais il ne suffit pas précis (Roy et *al.*, 2009).

La détermination du statut de l'infection de la mamelle est traditionnellement impliquée l'utilisation des tests de laboratoire standard tels que la culture microbiologique. Bien que ces tests soient fiables et précis, ils ne sont pas pratiques pour une utilisation à la ferme, et des alternatives ont été développées (Rodrigues et *al.*, 2009).

Un outil de diagnostic idéal et fiable pour sélectionner les quartiers atteints devrait être facile à réaliser à la ferme, la bactériologie du lait ne correspond pas à ces critères (Roy et *al.*, 2009).

### **I.8.2 Les approches actuelles pour le diagnostic de la mammite**

Le nombre de cellules somatiques a été accepté comme le meilleur indice d'utiliser à la fois à évaluer la qualité du lait et de prédire l'infection du pis chez la vache (Pyörälä 2003).

Un certain nombre de choix existent pour l'identification de la mammite, mais ils ont des différences quant à la précision (sensibilité et spécificité) et le coût. L'énumération des cellules

somatiques est une méthode commune pour l'identification de l'inflammation de la glande mammaire (Fosgate *et al.*, 2013).

### I.8.3 Le test de mammite de Californie (CMT)

L'un des plus anciens et des plus connus test (Schalm *et al.*, 1975). Le test CMT est un test rapide, pas cher et simple pour le dépistage de la mammite subclinique dans des conditions de terrain (Mahmmod *et al.*, 2013).

La réaction du CMT est une mesure indirecte pour le dénombrement des cellules du lait. Au cours des 50 dernières années, de nombreuses études ont été menées pour tenter de valider le test CMT comme un prédicteur des infections intra mammaires (Sanford *et al.*, 2006).

Le lait d'une glande mammaire bovine saine, non infecté contient des cellules somatiques comprenant les macrophages, les neutrophiles et les lymphocytes. Le nombre de ceux-ci est généralement <50000 cellules / ml de lait. Lorsque la mammite est présente, le nombre de cellules augmente, principalement en raison de l'infiltration de neutrophiles (Andrews *et al.*, 2008).

Selon l'estimation du nombre de cellules somatiques en utilisant le test CMT, un quartier a été considéré atteint d'une mammite subclinique lorsque les cellules somatiques est supérieure à 200.000 / ml sans signes cliniques manifestés (Xu *et al.*, 2015).

En raison de l'absence de signes cliniques observables chez les animaux avec la mammite subclinique, le diagnostic présomptif a été fait sur la base de tests de diagnostic d'échantillons de lait dont le test CMT (El-Ashker *et al.*, 2015).

**Tableau 8. Lecture et interprétation du test CMT (Cockcroft, 2015)**

Score	Interprétation	Réaction visible	Nombre total de cellules/ml
0	Négatif	Mélange fluide	0-200000 0-25% Neu
1	Trace	Floculat très fin qui Disparait après agitation	150000-500000 30-40% Neu
2	Fiable positif	Floculat très net sans Tendance à la gélification	400000-1500000 40-60% Neu
3	Distinct positif	Floculat épais avec d'un gel	800000-5000000 60-70% Neu
4	Forte positif	Viscosité fortement augmentée. Un gel cohésif et solide, avec une surface convexe	>5 000 000 70-80% Neu

Neu : Neutrophiles

Malheureusement, les agriculteurs ne sont pas conscients qu'une vache apparemment en bonne santé peut abriter " cacher " la mammite, qui, dans un long terme crée une perte énorme de la production laitière, et qui peut compromettre la qualité et la sécurité du lait (Kivaria *et al.*, 2007b).

---

Le test CMT mesure la quantité d'ADN dans un échantillon de lait, et donne une mesure indirecte du nombre de cellules somatiques présentes. Un échantillon de lait de chaque quartier est placé dans le puits d'une palette en plastique fourni avec le test. Le volume de l'échantillon est ajusté en versant l'excès en utilisant un marqueur dans la palette. Un volume égal de détergent est ajouté à chaque puits, et la palette est doucement tourbillonnée. Plus visqueux devient le mélange, plus grande est la numération des cellules somatiques. L'interprétation est assurée dans le (Tableau 8).

Il y a également un indicateur de pH présent (le bleu de bromothymol), qui passe du jaune à pourpre avec un pH acide. Cependant, même si une diminution du pH est associée à certains types de mammite, l'absence de changement de couleur ne se prononce pas sur la mammite et, souvent, la couleur reste violette en présence de la mammite.

Une procédure utile est d'identifier les quartiers infectés en utilisant le test CMT et de recueillir un échantillon de lait pour la culture bactériologique.

#### **I.8.4 La précision du test CMT**

Selon Mellenberger, (2001), la précision du test CMT est fondée sur trois principes :

- 1) Les leucocytes (globules blancs) augmentent considérablement en nombre quand une infection affecte le tissu mammaire.
- 2) Les leucocytes : en particulier, les leucocytes polynucléaires ont de gros noyaux (ADN) par rapport à d'autres cellules ou de bactéries dans le lait.
- 3) La paroi cellulaire des leucocytes est principalement constituée de lipides (graisses).

La sensibilité et la spécificité du test CMT rapportées dans la littérature est variable.

Selon Mahmmoud et *al.*, (2013), Sanford et *al.*, (2006) ont constaté que la sensibilité et la spécificité du test CMT pour identifier les principaux agents pathogènes, y compris *Staphylococcus aureus* étaient de 79% et 46%, respectivement, alors qu'ils étaient de 66,7% et 54,8%, respectivement, dans une étude réalisée par Sargent et *al.*, (2001).

D'après Roy et *al.*, (2009), Sargeant et *al.*, (2001) ont constaté que la sensibilité et la spécificité d'identifier toute infection intra mammaire au niveau de quartier était de 57% et 56%, respectivement. D'autre part, Vijaya et *al.*, (1998) ont rapporté une sensibilité de 71% et une spécificité de 75%.

#### **I.8.5 Avantages et inconvénients du test CMT**

Le test CMT présente un certain nombre d'avantages et d'inconvénients (Blowey et *al.*, 2010).



**Tableau 9. Le comptage de cellules somatiques et d'autres méthodes actuelles de détection des mammites (Viguiet *et al.*, 2009).**

<b>La méthode</b>	<b>Principe</b>	<b>Avantage</b>	<b>Inconvénient</b>
<b>Portachek</b>	Ce test utilise une réaction enzymatique catalysée par estérase pour déterminer la concentration des cellules somatiques dans le lait.	Rentable (3 \$ US par test), rapide et facile à utiliser	Faible sensibilité aux basses concentrations des cellules somatiques.
<b>Fossomatic</b>	Ce compteur fonctionne selon le principe de la fluorescence optique. Le bromure d'éthidium pénètre et intercale avec l'ADN nucléaire, et le générateur de signal de fluorescence est utilisée pour estimer la concentration des cellules somatiques dans le lait.	Rapide et automatisée	Le dispositif est coûteux (7000 \$ US) et complexe à utiliser.
<b>Delaval compteur de cellules</b>	Ce compteur fonctionne selon le principe de la fluorescence optique, dans lequel l'iodure de propidium est utilisé pour colorer l'ADN nucléaire pour estimer la concentration des cellules somatiques dans le lait.	Rapide et le dispositif est facilement transportable.	Relativement coûteux.
<b>Le test de la conductivité électrique</b>	Ce test mesure l'augmentation de la conductivité du lait provoquée par l'élévation des taux d'ions tels que le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium et le chlorure durant l'inflammation.	Peut être utilisé « sur place ».	Problème dans le diagnostic lié à la grande variation dans la lecture.
<b>Les enzymes</b>	Des dosages sont utilisés pour détecter des enzymes, telles que la N- (NAGase) Acetyl glucosam-inidase et (LDH) la Lactate Déshydrogénase.	Les dosages sont rapides.	Les essais pourraient être en laboratoire.

Comme avantages du test CMT, on peut citer :

- Il est un test pas cher ;
- Il peut être effectué par le trayeur pendant la traite ;
- Les résultats sont disponibles immédiatement ;
- Il est reproductible ;
- Il donne une indication sur le niveau d'infection de chaque trimestre séparément ;
- Tout résultat sur une réaction de trace est considéré comme suspect.

Les inconvénients du test CMT comprennent :

- Variation significative des résultats ;
- Variation de potentiel entre les opérateurs ;
- Les modifications ne sont vues à la numération des cellules de 400.000 et plus ;
- Aucun résultat numérique.

Une série de tests peut être appliquée pour le lait pour détecter les mammites subcliniques. Ces tests mesurent généralement les changements qui sont soit cytologiques ou biochimiques ou les deux à la fois. Dans le (Tableau 9), des tests actuellement utilisés sont cités :

## **I.9 Étude épidémiologique de la mammité**

La mammité subclinique, est la forme la plus commune de la mammité. Elle est de 3 à 40 fois (Mir et *al.*, 2014), ou de 15 à 40 fois plus fréquente que les cas cliniques (Hamed et *al.*, 2014 ; Marimuthu et *al.*, 2014) déclarent une prévalence d'environ 40-50 fois plus que la mammité clinique qui attire une attention prompte à l'industrie laitière.

Cette forme de mammité a reçu peu d'attention en Algérie ; des efforts ont été concentrés seulement sur le traitement de cas clinique. De ce fait, il devient indispensable de mettre en place des enquêtes épidémiologiques, car il est important de connaître l'épidémiologie de la maladie et, c'est une exigence absolue pour la combattre efficacement (M'Sadak et *al.*, 2014).

### **I.9.1 La prévalence**

La mammité est très commune chez les vaches dans les pays en voie de développement (Kurjogi et *al.*, 2014). Plusieurs études différentes soulignent que la mammité subclinique est plus importante économiquement que la mammité clinique. Ceci est expliqué par le fait que la mammité subclinique est plus difficile à diagnostiquer et donc habituellement persiste plus longtemps dans les troupeaux, causant des pertes de production (Abrahmsen et *al.*, 2014). Il n'y a pas d'altérations visibles de lait et, par conséquent une difficulté de détection (Rajic-Savic et *al.*, 2015).

La mammité subclinique est considérée comme le type le plus important de la mammité en raison de la prévalence plus élevée et des effets nuisibles à long terme des infections chroniques par rapport à la mammité clinique (Tolosa et *al.*, 2013). Le diagnostic précoce de la mammité subclinique est vital parce que les changements dans le tissu de la mamelle se produisent rapidement et les signes deviennent apparents (Kurjogi et *al.*, 2014).

Les raisons de la grande propagation des infections intra mammaires dans le monde sont de toute évidence liées aux caractéristiques des bactéries, mais aussi à une incompréhension générale de l'épidémiologie conduisant à des mesures de contrôle inefficaces (Zecconi, 2010).

---

Ainsi, la prévalence, le diagnostic, sont des domaines très importants à la fois en termes de médecine vétérinaire et de l'économie des pays (Abrahmsen et *al.*, 2014).

La prévalence des agents pathogènes de la mamelle peut varier entre les pays, mais les études européennes et américaines décrivent de façon générale les staphylocoques, comme les principaux agents responsables de la mammite subclinique (Botrel et *al.*, 2010).

Xu et *al.*, (2015) ont affirmé que les Staphylocoques sont les bactéries le plus souvent isolées de la mammite bovine.

La prévalence de la mammite subclinique est signalée à être de 31% aux États-Unis, les Pays-Bas (23% et 29%), la Belgique (40%), la Suisse (35%), et 29% en Australie (Plozza et *al.*, 2011).

Aux Pays-Bas, les isolats récupérés de 18,9% des 438 cultures positives des échantillons de lait dont la numération des cellules somatiques élevées provenant de vaches atteintes de mammite subclinique ont été identifiés comme *Staphylococcus aureus* (Thomas et *al.*, 2015).

Dans d'autres pays avec le développement des industries laitières, la prévalence de la mammite subclinique est beaucoup plus élevée. Une enquête d'une province laitière en Chine a rapporté 54% de prévalence au niveau de la vache et 28% au niveau du quartier. De même, le niveau de la prévalence des vaches au Brésil est de 47% (Contreras et *al.*, 2011).

Mekonnen et *al.*, (2010) ont déclaré que la prévalence des mammites subcliniques dépasse celle des mammites cliniques de 4,5, 6,6 et 9,3 fois, respectivement à l'échelle du troupeau, des vaches et des quartiers, dans les élevages laitiers en Adama, Ethiopie.

Abrahmsen et *al.*, (2014) ont rapporté une prévalence globale de la mammite subclinique chez les vaches à 37,2% dans la province de Jinja en Ouganda.

Bitew et *al.*, (2010) ont rapporté une prévalence de la mammite subclinique à 25,2 au niveau des vaches laitières et de 12,3 au niveau des quartiers dans la région de Bahir Dar en Ethiopie.

En Zimbabwe, Katsande et *al.*, (2013) ont noté la prévalence de la mammite subclinique chez les vaches des petites exploitations laitières est de 16.3%.

La prévalence des infections intra-mammaires subcliniques dans les troupeaux laitiers a été étudiée dans la commune rurale de Hamdallaye au Niger, a montré une prévalence qui varie de 27,1 à 55,2% (Harouna et *al.*, 2009).

En Algérie, la maladie n'a pas été bien étudiée. Une étude de la mammite chez les bovins à Blida et Ain Defla, région du centre Algérien en 2011 montrent que 29,20% des quarts et 29,62% des vaches avaient une mammite subclinique (Saidi et *al.*, 2013). Une autre étude

---

réalisée à Batna et Sétif dans la région Est de l'Algérie démontre un pourcentage de 29,44% de quartiers atteints de mammite subclinique (Mamache *et al.*, 2014).

Cependant, la prévalence a été signalée étant influencées par des facteurs tels que la race, anomalie anatomique de la mamelle, le stade de lactation, la reproduction et la pratique de gestion (Marimuthu *et al.*, 2014).

### **I.9.2 La sensibilité aux mammites**

Les bovins laitiers sont exposés à de nombreux facteurs génétiques, physiologiques, et environnementaux qui peuvent compromettre l'immunité de l'hôte et accroître l'impact de la mammite (Sordillo 2005).

Il existe des corrélations génétiques défavorables entre la production de lait et la mammite. La croissante sélection génétique, pour maximiser la production de lait, accroît le stress métabolique, associé à la synthèse et la sécrétion de lait, qui provoque une diminution de la résistance à la mammite (Oltencu *et al.*, 2010).

D'un point de vue environnemental, la traite mécanique peut causer un traumatisme des tissus des trayons, ce qui facilite la colonisation par les organismes provocateurs de la mammite.

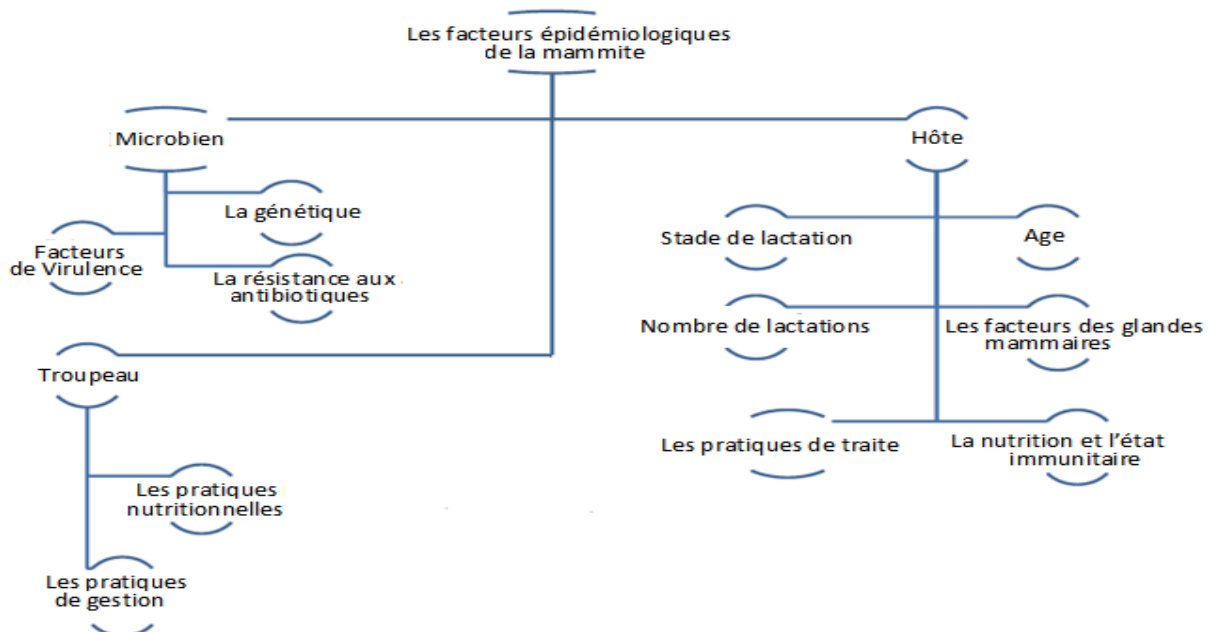
Une augmentation des densités de vache par unité de surface, et l'utilisation de matériaux de litière qui soutiennent la croissance bactérienne peut aussi avoir un impact marqué sur la susceptibilité des bovins laitiers à de nouvelles infections mammaires en épuisant les mécanismes de défense locales (Hogan *et al.*, 2003).

Selon McDougall *et al.*, (2009), les facteurs qui conduisent à la mammite peuvent être définis comme :

- Des **facteurs prédisposants** : à savoir les facteurs qui augmentent la susceptibilité de l'hôte tels que l'âge ou la fonction immunitaire ;
- Des **facteurs favorisants** : à savoir les facteurs qui facilitent les infections intra mammaires tels que le logement ou la nutrition ;
- Des **facteurs déclenchants** : à savoir les agents infectieux associés à la mammite ;
- Des **facteurs de renforcements** : à savoir les facteurs qui aggravent la mammite, tels que la réponse immunitaire déprimée ou l'exposition récurrente à l'agent pathogène.

La santé de la mamelle dépend d'une interaction équilibrée entre l'hôte et sa microflore, qui peuvent contenir des microorganismes potentiellement infectieux (Contreras *et al.*, 2011). Par conséquent, il y a beaucoup de facteurs microbiens, hôtes et ou environnementaux qui peuvent

jouer des rôles importants dans le développement de la mammite et qui sont illustrés dans la (Figure 7).



**Figure 7. Les facteurs épidémiologiques influençant la mammite, étiologie et la physiopathologie (Contreras et al., 2011).**

### I.9.3 Source et transmission de la bactérie

Les ruminants portent les souches de Staphylocoques sur la peau qui comprend la peau du trayon surtout quand il est endommagé ou érodé. La répartition de l'espèce, toutefois, diffère dans les différentes régions du corps et la peau du trayon, et la microflore du sommet du trayon diffère de la microflore associée avec la peau poilue. Le développement de la mammite est lié à l'entrée des staphylocoques dans le canal du trayon et de coloniser le sommet du trayon (Gyles et al., 2011).

Les différences dans l'épidémiologie des organismes contagieux et environnementaux sont résumées dans le (Tableau 11).

L'infection de la glande mammaire est presque toujours via le canal du trayon. Chez les vaches cela se produit généralement lorsque le sphincter du trayon est mou, pour une période de 20 minutes à deux heures après la traite (Markey et al., 2013). Les colonies deviennent établies à la fin de trayon et se développent lentement à travers le canal sur 1-3 jours (Blowey et al., 2010).

Ces agents pathogènes sont transmis par la machine à traire ou les mains de trayeurs. Après l'entrée de la glande mammaire, les organismes s'établissent et se multiplient. L'adhérence à l'épithélium mammaire est un important facteur de virulence des agents pathogènes contagieux (Markey et al., 2013).

**Tableau 10. Les facteurs bactériens, l'hôte et les facteurs environnementaux qui influent sur l'apparition de la mammite (Markey et al., 2013).**

Les facteurs microbiens	Les facteurs de l'hôte	Les facteurs environnementaux
L'adhésion particulière pour les agents pathogènes contagieux	la Âge : les vaches plus âgées (> 4 <sup>ème</sup> lactation) sont plus sensibles ; peut être due en partie à la rapidité et l'efficacité de la réponse des neutrophiles	La présence d'un grand nombre d'agents pathogènes potentiels dans l'environnement immédiat de l'animal, que ce soit logé ou au pâturage.
La liaison au Fer	Génétique : des différences considérables entre et à l'intérieur des races. Il existe une corrélation négative entre la production laitière et la résistance à la mammite. Héritabilité de la résistance à la mammite est faible	Les facteurs de gestion, y compris les pratiques d'alimentation. Le bilan énergétique négatif chez les vaches à haut rendement en post-partum peut compromettre la réponse immunitaire.
La production d'endotoxines	Le stade de lactation	Les mauvaises techniques de traire et le manque d'hygiène.
La capacité anti-phagocytaire	La présence de lésions des trayons : peuvent prédisposer à la traite inadéquate, ou abriter des bactéries qui produisent la mammite.	Les traumatismes externes.
La survie dans l'environnement immédiat de l'hôte	Les facteurs immunologiques, y compris l'efficacité de la réponse phagocytaire et au niveau de la lactoferrine, des immunoglobulines et du complément.	Le dysfonctionnement de la Machine à traire ou une conception inadéquate.
L'aptitude à coloniser le canal du trayon		

**Tableau 11. Les principales différences entre les organismes contagieux et environnementaux (Blowey et al., 2010).**

	Contagieux	Environnemental
<b>Source de l'infection</b>	Le quartier et la mamelle	L'environnement contaminé
<b>Transfert de l'infection dans la mamelle</b>	Pendant la traite	Entre les traites et pendant la période sèche
<b>La mammite clinique</b>	La plupart des cas sont subcliniques	La plupart des cas sont cliniques
<b>Le contrôle</b>	Le trempage poste traire des trayons. Le traitement au tarissement. L'hygiène de traite L'abattage.	L'hygiène de l'environnement. Le trempage avant la traire des trayons.

#### I.9.4 Pathogénèse

Les organismes passent à travers le canal du trayon dans la citerne et peut par la suite s'établir dans une zone de tissu sécrétoire. La pathogénèse de *Staphylococcus aureus* dans la

---

glande mammaire implique probablement le concept généralement admis de la colonisation spécifique. Les bactéries *Staphylococcus aureus* sont en outre capables de se lier à des molécules de la matrice extracellulaire. Il est suggéré que les staphylocoques peuvent utiliser des protéines de matrice :

- Exposés par des microlésions ou apparaissant dans des caillots de sang
- En tant que substrats pour l'adhésion et comme une étape dans la colonisation et le développement d'infections mammaires.

Les Staphylocoques isolés à partir de la mammite bovine ont la capacité de se lier à la fibronectine, le fibrinogène, et différents types de collagène.

Le lait est un milieu adéquat pour la multiplication des Staphylocoques. Au cours de la multiplication des Staphylocoques, des substances cyto-toxicogènes sont produites, ce qui provoque une infiltration de la glande mammaire par les neutrophiles. L'agrégation des neutrophiles se traduit par la formation de caillots dans le lait et l'œdème inter-alvéolaire. La présence des Staphylocoques et des neutrophiles obstruent les lobules, qui commencent à s'involuter. L'accumulation des fibroblastes, des macrophages, des lymphocytes se traduit par la dilatation du tissu conjonctif inter-alvéolaire. Les bactéries restent dans les alvéoles et les canaux d'où elles sont excrétées par intermittence. La multiplication intense locale de *Staphylococcus aureus* peut entraîner des abcès ou des granulomes (Gyles et al., 2011).

## **I.10 Antibiorésistance**

### **I.10.1 Qu'est-ce qu'un antimicrobien et un antibiotique ?**

Le mot « antimicrobien » (du grec *anti* : contre, *mikros* : petit et *bios* : vie), est une substance capable d'agir contre la vie des microorganismes. L'adjectif antibiotique (du grec *anti* : contre, *biotikos* : concernant la vie) utilisé pour la première fois en 1889, en référence à une substance synthétisée par un organisme pour en détruire un autre, se précisera plus tard, comme une substance chimique produite par un microorganisme et disposant en solution diluée de la capacité d'inhiber sélectivement la croissance voir même de détruire d'autres microorganismes.

Les composés utilisés à des fins thérapeutiques lors de maladies bactériennes chez l'homme et les animaux sont fréquemment appelés, par les professionnels de la santé, antibiotiques. Pourtant, ce terme est bien souvent utilisé de façon erronée et subit régulièrement un élargissement de son sens. En effet, la définition du mot antibiotique réfère strictement aux substances antimicrobiennes d'origine naturelle, et selon cette notion, ce terme ne devrait donc pas être employé pour qualifier des substances synthétiques telles que les sulfamidés et les

quinolones, ou semi-synthétiques telles que l'amoxicilline (Guillemot et *al.*, 2006 ; Muylaert et *al.*, 2012).

**Tableau 12. Principaux modes d'action des grandes familles d'antibactériens (Auckenthaler, 1999 ; Greenwood, 2003 ; Alanis, 2005).**

<b>Mode d'action</b>	<b>Familles d'antibiotiques impliquées</b>
Inhibition de la <b>synthèse de la paroi bactérienne</b>	$\beta$ -lactamines, glycopeptides (vancomycine) et polypeptides (bacitracine)
Inhibition de la <b>synthèse ou du fonctionnement de la membrane plasmique</b>	Polymyxines
Inhibition de la <b>synthèse des protéines</b>	Aminosides, tétracyclines, macrolides et lincosamides
Inhibition de la <b>synthèse de l'acide nucléique (ADN)</b>	Quinolones et certains ansamycines
Inhibition du <b>métabolisme intermédiaire</b> (acide folique, impliqué dans la synthèse des <i>nucléotides</i> )	Sulfamides, triméthoprim

La caractéristique principale des antibiotiques est leur grande spécificité d'action car ils agissent sur des cibles cellulaires structurales ou métaboliques spécifiques des procaryotes. Cette caractéristique leur permet d'être efficace à de faibles concentrations et d'être, la plupart du temps, non toxiques pour les espèces animales : c'est le principe de la toxicité sélective. Au sens large, on y inclut également les antibactériens de synthèse ou de semi-synthèse chimique. Leur importance est capitale dans la lutte contre les maladies infectieuses (Guillemot et *al.*, 2006 ; Collectif, 2008).

## **I.10.2 Les antibiotiques en médecine vétérinaire**

### **I.10.2.1 Antibiothérapie à usage vétérinaire**

Les antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire appartiennent aux mêmes familles, à l'exception de quelques sous familles spécifiques de la médecine humaine.

Ils peuvent être administrés par voie orale, parentérale ou topique, ont pour objectifs la maîtrise des maladies, la restauration ou le maintien du bien-être animal et la prévention de la transmission des agents pathogènes aux autres animaux voire à l'Homme (Schwarz et *al.*, 2001 a ; Phillips et *al.*, 2004).

### **I.10.2.2 L'utilisation d'agents antimicrobiens chez les animaux**

Les antibiotiques sont la seconde classe de médicaments utilisés en médecine vétérinaire. Ils sont utilisés depuis les années 50 chez les animaux producteurs de denrées alimentaires. (Sanders, 2005).



---

### I.10.2.3 Types d'utilisation

Il y a quatre façons dans lesquelles des substances présentant une activité antimicrobienne sont utilisées chez les animaux : la thérapie, la métaphylaxie, la prophylaxie et la promotion de la croissance (Schwarz et *al.*, 2001 b).

Selon Phillips et *al.*, (2004) :

- La thérapie est l'administration d'un antimicrobien à un animal, ou un groupe d'animaux, qui présentent une maladie clinique franche.
- La prévention / prophylaxie est l'administration d'un antimicrobien à des animaux sains exposés considérés comme étant à risque, mais avant le début prévu de la maladie et pour lesquels aucun agent étiologique n'a encore été mis en culture.
- La métaphylaxie est un traitement de contrôle utilisé quand il y a une maladie clinique chez certains animaux, mais tous sont traités.
- La promotion de la croissance est l'administration d'un agent antimicrobien, habituellement sous forme d'un additif alimentaire, au cours d'une période de temps, à l'animal en croissance qui se traduit par une amélioration des performances zootechniques.

D'après (Schwarz et *al.*, 2001 a) certaines particularités de la pharmacopée vétérinaire par rapport à la pharmacopée humaine peuvent être répertoriées :

- En médecine vétérinaire, le coût du traitement doit être pris en compte. Pour des raisons économiques, les vieilles molécules efficaces telles que les pénicillines et les tétracyclines sont largement utilisées.
- En médecine vétérinaire, certaines familles d'antibiotiques sont sous-développées par rapport à leurs apparentés actuellement en usage humain.
- Un nombre très limité de nouvelles molécules ont été introduites dans la médecine vétérinaire et peu de nouveaux antibiotiques sont en cours d'élaboration.
- Des molécules ont été seulement introduites dans la médecine vétérinaire, comme la tylosine.
- Des molécules introduites dans la médecine humaine n'ont pas été introduites dans la thérapie des animaux, comme par exemple, la troisième génération de céphalosporines, l'amikacine.

**Tableau 13. Coïncidence de temps entre la découverte / production d'agents antimicrobiens, leur introduction en utilisation clinique, ainsi que l'apparition de bactéries résistantes (Schwarz et al., 2001 a)**

Agent antibactérien	Découverte/production	Introduction à l'utilisation clinique	Présence de bactéries résistantes
Pénicilline	1940	1943	1940
Streptomycine	1944	1947	1947,1956
Tétracycline	1948	1952	1956
Erythromycine	1952	1955	1956
Vancomycine	1956	1972	1987
L'acide nalidixique	1960	1962	1966
Gentamicine	1963	1967	1970
Fluoroquinolones	1978	1982	1985

### I.10.3 Qu'est-ce que l'antibiorésistance ?

L'introduction et l'usage des antimicrobiens en médecine vétérinaire ont, sans nul doute, contribué à l'amélioration de la productivité et de la santé animale. Cependant, leur utilisation a contribué à une sélection de résistances vis-à-vis de différentes familles d'antibiotiques parmi les microorganismes pathogènes et commensaux rencontrés au niveau des différentes flores de l'organisme des individus traités.

Malgré l'abondance de phénotypes de résistance aux antibiotiques observés au sein des bactéries, seul un nombre limité de mécanismes par lesquels ces résistances sont acquises ont été décrits (Muylaert et al., 2012).

Ce point constitue une question majeure sur le plan sanitaire, relayée par le corps médical qui décrit souvent le secteur vétérinaire comme un fort contributeur à cette situation (Maded, 2012).

Lors de la découverte de la pénicilline, les antibiotiques semblaient être "l'arme absolue" dans la lutte contre les maladies infectieuses. Aujourd'hui, l'apparition de bactéries multi résistantes et les problèmes qu'elles engendrent suscitent de nombreuses inquiétudes en médecine humaine (Roussel et al., 2006).

Lorsque Fleming a découvert la pénicilline, il a observé que certaines bactéries étaient intrinsèquement sensibles et d'autres intrinsèquement résistantes. Il a également noté que les bactéries sensibles pourraient développer une résistance, en particulier si elles sont exposées à de faibles doses, et a averti que si la pénicilline devenait pas chère et facilement disponible, l'utilisation « négligente » pourrait encourager la résistance et de l'échec du traitement (French, 2010).

---

#### **I.10.4 Définition de la résistance bactérienne**

La résistance aux antibiotiques est une réponse physiologique des bactéries à tout usage d'antibiotique (D'Costa et *al.*, 2011).

Selon (Chancey et *al.*, 2012) et (Magiorakos et *al.*, 2012) ; elle peut être encore définie :

- 1) Comme étant la capacité d'une bactérie spécifique à survivre en présence d'un antibiotique qui a été initialement efficace pour traiter les infections causées par la bactérie ;
- 2) L'acquisition d'un mécanisme de résistance à un antibiotique spécifique.

La définition de la résistance aux antibiotiques est encore à l'heure actuelle sujette à de nombreuses discussions. Ainsi, la résistance aux antibiotiques est définie selon différents points de vue.

En effet, selon la discipline considérée, l'approche de la résistance et son expression ne sont pas tout à fait les mêmes (Guillemot et *al.*, 2006) :

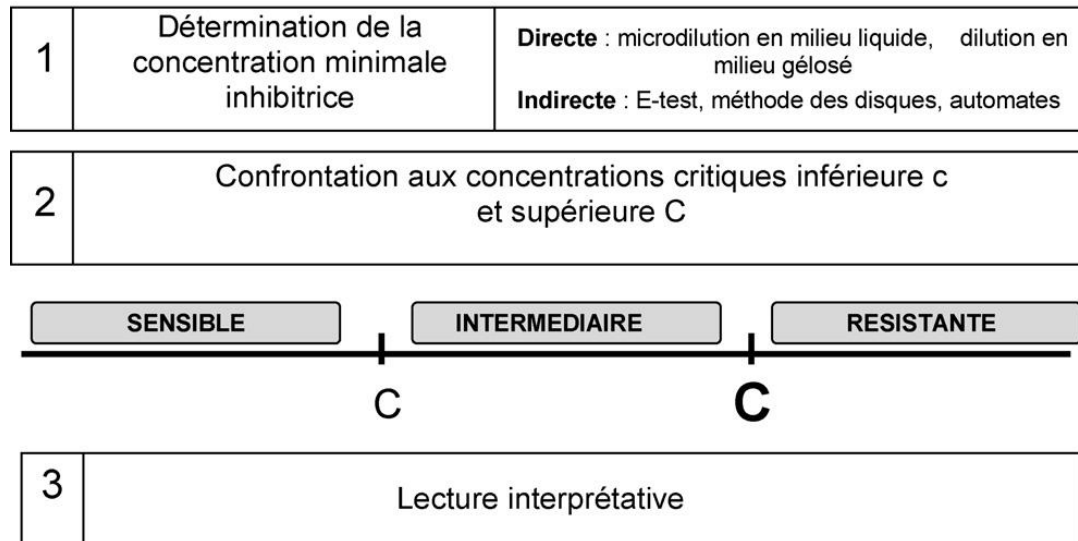
- Pour le clinicien, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si le traitement n'est pas efficace ;
- Pour le pharmacologue, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si les concentrations atteintes au site d'action, sont inférieures à la concentration minimale inhibitrice ;
- Pour le microbiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle dispose d'un mécanisme de résistance augmentant la valeur de la concentration minimale inhibitrice ;
- Pour l'épidémiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle a une concentration minimale inhibitrice significativement différente de celle de la population normale.

Afin de classer les bactéries en catégories sensible, intermédiaire ou résistante, des seuils critiques, « break points », sont déterminés par des groupes d'experts sur la base des informations cliniques, pharmacologiques, microbiologiques et épidémiologiques. Ces seuils critiques sont donnés pour des méthodes standardisées de détermination de la concentration minimale inhibitrice (concentration critique) ou de mesure de diamètres d'inhibition par une méthode de diffusion (diamètre critique) (Guillemot et *al.*, 2006).

La résistance clinique d'une bactérie à un antibiotique se définit par rapport à la gamme de concentrations atteintes en cours de traitement au niveau du site infectieux (Figure 8). Une espèce bactérienne est dite sensible si les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la

majorité des souches sont inférieures ou égales aux concentrations moyennes atteintes par l'antibiotique en cours du traitement. L'espèce est dite naturellement résistante à cet antibiotique si ces concentrations minimales inhibitrices sont supérieures à ces concentrations actives pour quasiment toutes les souches isolées de l'espèce (Sanders et *al.*, 2011).

### Catégorisation clinique d'une souche bactérienne



**Figure 8 .Principes de la catégorisation clinique d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un antibiotique (Cavallo et *al.*, 2008)**

Dans un contexte épidémiologique, un micro-organisme est défini comme « sauvage » ou « sensible » pour les espèces n'ayant pas acquis de mécanismes de résistance à l'antibiotique en question. Une souche bactérienne est définie de « non-sauvage » ou « résistante » vis-à-vis de l'espèce considérée lorsqu'elle a acquis un mécanisme de résistance à l'antibiotique cible (Carle, 2009).

#### **I.10.5 L'utilisation d'antimicrobiens chez les animaux et le développement de la résistance**

L'utilisation d'antibiotiques dans la production animale est blâmée pour contribuer à la résistance bactérienne croissante aux antibiotiques chez les humains. Cependant, presque tous les microorganismes ciblés par les agents antimicrobiens possèdent la capacité d'y devenir résistants. Dans ce contexte, des lignées microbiennes résistantes apparaissent régulièrement et il est reconnu qu'un usage accru, prolongé ou inapproprié des produits antimicrobiens est un facteur de risque d'apparition de cette résistance (Kuipers et *al.*, 2016).

---

Selon Schwarz *et al.*, (2001b) et Simonsen *et al.*, (2004), la dynamique des populations de la résistance aux antibiotiques dépend des antibiotiques administrés ; la résistance est également influencée par un certain nombre d'autres facteurs, notamment :

- La disponibilité du préexistant des gènes résistants ;
- L'interchangeabilité des gènes de résistance et de leur activité fonctionnelle dans différents hôtes bactériens ;
- La pression sélective.

### **I.10.6 Phénomène de l'antibiorésistance**

Ce phénomène est ancien, il n'a cessé de s'amplifier depuis les années 1970. Les mondes animal et humain sont riches en exemple d'antibiorésistance des bactéries (Sanders, 2005).

### **I.10.7 Origines de l'antibiorésistance**

On cite classiquement deux origines : résistance naturelle et résistance acquise (Sanders 2005).

#### **I.10.7.1 La résistance naturelle (ou intrinsèque)**

Elle se définit par une résistance aux antibiotiques due aux propriétés intrinsèques physiologiques, biochimiques ou structurales de la bactérie qui sont indépendantes de tout contact avec un antibiotique. (Membrane externe, efflux actif, capsule, matrice des biofilms).

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 et pourrait ainsi être mieux considéré comme l'insensibilité. 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.

La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (Guillemot *et al.*, 2006 ; Bebell *et al.*, 2014).

#### **I.10.7.2 La résistance acquise**

Comme son nom l'indique, se définit par une résistance acquise en raison d'une pression environnementale.

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans un élément mobile,

---

comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons (résistance extra chromosomique).

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme (Bebell et *al.*, 2014).

#### **I.10.7.2.a) Mutation chromosomique spontanée (évolution verticale)**

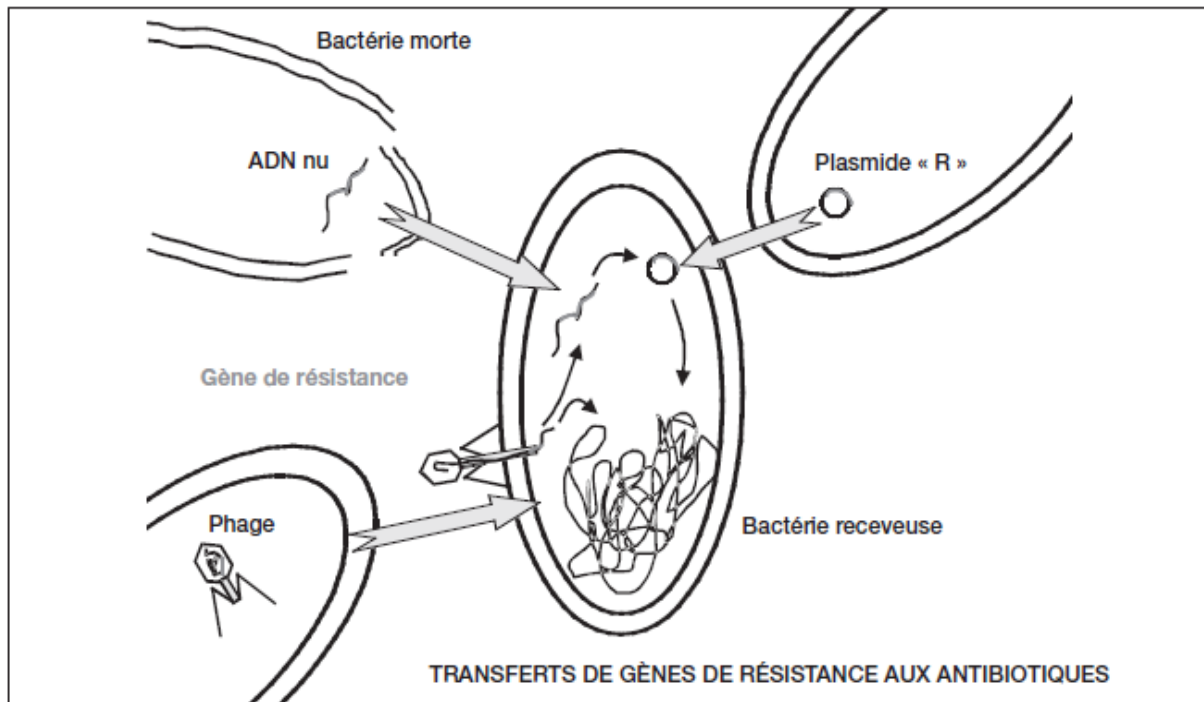
La mutation chromosomique spontanée constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20 % des bactéries. Les gènes de résistance se situent alors dans le chromosome de la bactérie. Une mutation n'affecte qu'un caractère, et la résistance ne concerne généralement qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques ayant le même mécanisme d'action (Carle, 2009).

#### **I.10.7.2.b) Acquisition de gènes de résistance par un autre organisme (évolution horizontale)**

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolés en clinique. L'acquisition d'un nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles.

Cette forme de résistance est transférable d'une bactérie à l'autre et même à des bactéries d'espèces différentes. Le transfert d'un seul plasmide augmente aussi le risque d'une résistance à plusieurs médicaments (Carle, 2009).

Les mécanismes de transfert (Figure 9) correspondent à des mécanismes bien connus : transformation (à partir d'ADN nu, notamment dans l'écosystème du sol), conjugaison (à partir de plasmides), transduction (à partir de phages).



**Figure 9. Mécanismes de transferts des gènes de résistance (Guillemot et al., 2006).**

Un gène peut coder pour un mécanisme de résistance aux antibiotiques. On parle de résistance croisée quand la résistance conférée par ce seul gène de résistance concerne plusieurs molécules appartenant à la même famille ou à des familles différentes. Par exemple, la résistance à la méticilline des staphylocoques due à la production d'une nouvelle protéine liant les pénicillines (PLP2a) est une résistance croisée envers toutes les molécules appartenant à la famille des bêta-lactamines.

Quand plusieurs gènes de résistance à différentes molécules ou familles d'antibiotiques s'associent au sein d'une structure génétique tel qu'un transposon, un plasmide ou un intégron, on parle alors de co-résistance aux antibiotiques. Quand ces résistances sont transférables, elles sont généralement transférées en bloc (Guillemot et al., 2006).

La résistance acquise est présente uniquement dans certaines souches de la même espèce ou genre. Dans certains cas ; elle peut être très répandue, comme dans la production de la pénicillinase staphylococciques, et est présente dans plus de 90% des souches.

Il existe trois niveaux de diffusion exponentielle de la résistance aux antibiotiques : les épidémies de bactéries résistantes chez les mammifères, les épidémies de résistance plasmidique en raison de la large gamme d'hôtes de la conjugaison, et les épidémies de gènes entre bactéries (transposons et intégrons) (Périchon et al., 2009).

### **I.10.8 Mécanismes de résistance**

Les résistances intrinsèque et acquise ne diffèrent pas dans leurs mécanismes.

Sur le plan biochimique, Il existe quatre grands mécanismes d'action qui sont mis en jeu lors de l'acquisition de la résistance aux antibiotiques, et ils sont présentés au Tableau 14:

**Tableau 14. Mécanismes de résistance (Carle *et al.*, 2009 ; Bebell *et al.*, 2014)**

Mécanismes de résistance	Conséquences
Inhibition enzymatique	Production d'une enzyme qui inactive ou détruit l'antibiotique ; Mécanisme de résistance le plus répandu.
Réduction de la perméabilité cellulaire	Changements de perméabilité de la paroi ou de la membrane bactérienne empêchant le médicament d'atteindre sa cible.
Altération des sites de liaison ciblés par l'antibiotique	Baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action.
Pompes à efflux	Antibiotique éjecté de la cellule par transport actif et site d'action devenant inaccessible.

### I.10.8.1 Mesure de la résistance

Selon (Guillemot *et al.*, 2006), la mesure de la résistance est déterminée soit par :

- Méthodologie de l'antibiogramme ;
- Méthodologie moléculaire : Détection de gènes de résistance.

L'antibiogramme de la souche est déterminé par :

- La mesure de la concentration minimale inhibitrice qui consiste à mesurer la première concentration qui inhibe la croissance d'une souche bactérienne en inoculant des milieux liquides ou solides contenant des concentrations croissantes en antibiotiques (méthode par dilution) (Sanders *et al.*, 2011) ;
- La mesure d'un diamètre d'inhibition autour d'un disque contenant une quantité connue d'antibiotiques obtenue sur une gélose inoculée avec la souche étudiée (méthode par diffusion). Cette méthode est couramment pratiquée par les laboratoires de diagnostic pour réaliser l'antibiogramme des bactéries pathogènes animales et guider les vétérinaires dans leur prescription (Chen *et al.*, 2015).

## I.10.9 Problèmes rencontrés : risques pour la santé animale et humaine.

### I.10.9.1 Risques pour la santé animale

#### I.10.9.1.a) Risque de l'utilisation accrue des antibiotiques et l'échec thérapeutique

Dans le monde entier, il y a une préoccupation croissante au sujet de la prévalence accrue de la résistance aux antibiotiques. Il est maintenant généralement admis que le principal facteur de risque pour cette augmentation de la résistance des bactéries pathogènes est l'utilisation accrue des antibiotiques (Van Den *et al.*, 2000).

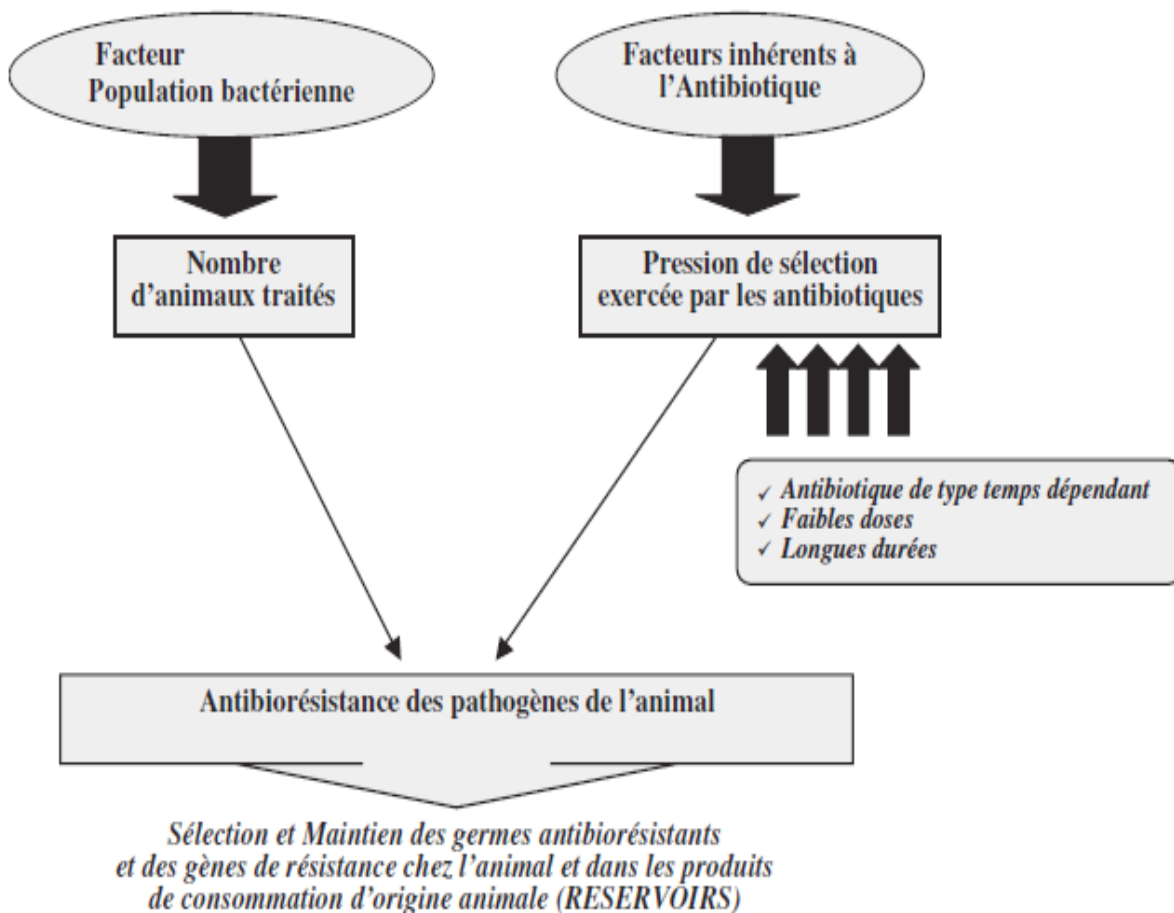


L'utilisation la plus fréquente de médicaments antimicrobiens dans les fermes laitières est de traiter la mammite due aux Staphylocoques (Soulsby, 2007).

D'après Faye (2005), l'utilisation vétérinaire des antibiotiques favorise la survenue de l'antibiorésistance chez les bactéries de l'animal, Les modalités d'utilisation des antibiotiques, le type d'antibiotique sont autant de facteurs qui vont favoriser le développement de l'antibiorésistance (Figure 10).

Les facteurs intervenant dans ces relations sont inhérents à la population bactérienne et aux traitements antibiotiques utilisés :

- Le nombre d'animaux traités ;
- La pression de sélection exercée par l'antibiotique.



**Figure 10. Relations entre l'utilisation des antibiotiques et antibiorésistance (Faye, 2005)**

L'utilisation des antibiotiques a pour conséquence de créer des environnements dans lesquels une pression de sélection va favoriser la survie des bactéries résistantes et, par voie de fait, la diffusion des gènes de résistance aux antibiotiques (Tableau 15).

**Tableau 15. Processus d'émergence et de dissémination de la résistance aux antibiotiques (Sanders et al., 2011)**

Gène	Mutation Acquisition	Émergence
Bactérie	Adaptation	Sélection
Animal	Traitement individuel	Sélection
Population animale	Traitement du groupe	Diffusion
Animal-Homme	Contact /Produit alimentaire	Transmission
Environnement	Fumiers, Lisiers, Boues, Aérosols de poussière. Eau, Sol.	Dissémination

Les phénomènes de résistance aux antibiotiques sont responsables de nombreux échecs thérapeutiques liés au fait que les traitements sont souvent prescrits sans antibiogramme préalable (Chen et al., 2015).

### **I.10.9.2 Risques pour la santé humaine**

#### **I.10.9.2.a) Le risque toxique et allergique**

La persistance de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires peut provoquer des réactions allergiques.

#### **I.10.9.2.b) La résistance aux antimicrobiens chez les animaux et la chaîne alimentaire**

L'utilisation généralisée des agents antimicrobiens chez les animaux et la chaîne alimentaire constitue une source importante de la résistance aux antimicrobiens, bien que l'impact de cette utilisation sur la santé humaine reste controversée (Marshall et al., 2011).

Des bactéries résistantes d'origine animale, pathogènes ou non, peuvent être directement transmises à l'homme par voie alimentaire entraînant soit une toxi-infection alimentaire soit, dans le cas des bactéries non pathogènes, une propagation des gènes de résistance aux bactéries commensales et infectieuses d'origine humaine (Liebana et al., 2012).

#### **I.10.9.2.c) Les stratégies de limitation de l'émergence des antibiorésistance**

L'amélioration des connaissances sur l'utilisation des antibiotiques dans les filières de production animale est indispensable à l'évaluation des risques d'antibiorésistance, problème majeur en santé vétérinaire et humaine depuis plusieurs années (Cazeau et al., 2010).

L'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire doit s'effectuer en respectant les principes d'un rapport bénéfice/risque en faveur de la santé publique (Sanders 2005).

La mise en œuvre de la thérapie vétérinaire est amenée aujourd'hui à évoluer, notamment en raison de la progression des phénomènes d'antibiorésistance. Même si des résistances existent chez des bactéries n'ayant jamais été en contact avec des antibiotiques, l'utilisation massive des antibiotiques au cours des dernières décennies, tant en médecine humaine que vétérinaire semble en avoir accéléré leur émergence et leur diffusion (Roussel et al., 2006).

---

À notre connaissance, l'évaluation du risque d'échecs thérapeutiques, dû à la résistance aux antibiotiques, est moins développée en médecine vétérinaire. L'étude de la relation entre l'efficacité clinique et celle, bactériologique, des traitements vétérinaires, fait aujourd'hui l'objet de réflexion en médecine vétérinaire (Sanders, 2005).

La maîtrise de ce problème est donc entre les mains des prescripteurs qui doivent faire des efforts communs d'utilisation raisonnée des antibiotiques. L'exploitation épidémiologique des informations concernant la résistance aux antibiotiques et les prescriptions ; mais également les règles d'hygiène générale, sont également un outil important de maîtrise de la résistance. La mise en place d'outils adaptés à la pratique vétérinaire est un enjeu pour la profession comme pour les systèmes de production.

À l'instar de la médecine humaine, le suivi de l'évolution de l'antibiorésistance chez l'animal permet de mieux identifier les familles d'antibiotiques sur lesquelles le prescripteur doit porter une attention particulière dans le cadre de leur utilisation raisonnée (Sanders, 2005).

Selon Roca et *al.*, (2015), le coût biologique associé à la résistance, quand elle existe, est souvent réduit par une évolution de compensation permettant la stabilisation des bactéries résistantes dans la population.

Les interventions visant à limiter l'émergence et la propagation de bactéries résistantes dans le cadre des animaux peuvent inclure les éléments suivants :

- L'interdiction de l'utilisation d'antibiotiques comme promoteurs de croissance et de limiter son utilisation pour d'autres applications non thérapeutiques,
- La réduction de la diffusion des bactéries multi résistantes dans la chaîne alimentaire en améliorant la biosécurité agricole et élaboration des stratégies alternatives de traitement et l'augmentation des conditions de pratiques d'hygiène le long de la chaîne alimentaire,
- L'élaboration de programmes d'éducation, dirigés principalement aux vétérinaires, aux agriculteurs et aux manipulateurs d'aliments,
- Lier les systèmes de surveillance sur la résistance aux antibiotiques établis pour les humains et les animaux.

La solution la plus rapide et la plus pragmatique, actuellement, est de repenser l'utilisation des antibiotiques pour préserver l'efficacité des molécules actives disponibles (Roussel et *al.*, 2006).

Un bon usage des antibiotiques est donc indispensable afin de limiter la sélection de bactéries résistantes, de préserver l'efficacité du médicament antibiotique (Cazeau et *al.*, 2010).

---

## **I.11 Importance de la mammite**

En Algérie, durant ces deux dernières décennies, la demande en lait et produits laitiers n'a pas cessé d'augmenter. Les infections mammaires constituent une pathologie importante des élevages bovins laitiers algériens puisqu'elles concernent pratiquement une vache sur deux (50,6%) (Kebbal et *al.*, 2010).

### **I.11.1 Les effets économiques de la mammite bovine et de la gestion de la mammite**

Bien que la mammite subclinique soit plus répandue que la mammite clinique, l'impact économique des infections subcliniques est plus difficile à quantifier et de prévoir des troupeaux en raison de la variabilité de l'intensité de dépistage au niveau du troupeau et de la définition de cas (Rollin et *al.*, 2015).

La mammite subclinique a la plus grande importance économique en raison de la réduction à long terme de la production laitière. Les pertes sont des revenus potentiels perdus, alors que les coûts de contrôle sont les dépenses réelles liés à des traitements, des mesures préventives, et à la main-d'œuvre supplémentaire utilisée (Sinha et *al.*, 2014).

Selon Halasa et *al.*, (2007) et Viguier et *al.*, (2009), les facteurs économiques et les coûts associés peuvent être répartis comme suivants :

#### **I.11.1.1 Les pertes de production de lait**

Les pertes économiques sont engendrées par la baisse de la production de lait par vache et la réduction du système de paiement du lait fondé sur les kilogrammes de lait. Les pertes de la production sont temporaires ou permanentes.

#### **I.11.1.2 Les médicaments**

Les médicaments nécessaires pour traiter les animaux infectés sont une cause directe de dommages économiques, en raison de leurs coûts.

#### **I.11.1.3 Lait jeté**

Les pertes sont sous la forme de lait anormal jeté des quartiers infectés. Le préjudice économique dû au lait jeté est comparable à une diminution de cette production de lait et les coûts d'alimentation.

#### **I.11.1.4 Services vétérinaires**

Le coût de diagnostic et le traitement des cas de mammites.

#### **I.11.1.5 La main d'œuvre**

Le coût du travail supplémentaire et le temps qui a été utilisée pour prévenir et traiter les vaches atteintes de mammite.

**I.11.1.6 Les coûts sont**

- Des coûts de traitements supplémentaires liés, par exemple, aux médicaments et soins vétérinaires.
- L'augmentation des coûts de main-d'œuvre, par exemple le travail supplémentaire requis pour l'élevage de bétail et pour l'application de mesures préventives.
- Augmentation des coûts pour la surveillance de la qualité du lait et de l'état de la maladie chez le reste du troupeau.

**I.11.1.7 La qualité des produits**

La réduction du système de paiement du lait fondé sur les kilogrammes de composants de lait tel que la graisse et les protéines, résultant en des produits laitiers avec des propriétés organoleptiques moins favorables et de mauvaise qualité avec un nombre élevé de cellules somatiques. L'utilisation d'antibiotiques dans le traitement de la mammite fait augmenter le risque de pénalités par le rejet du lait. Certains de ces changements rendent le traitement du lait moins efficace et pourrait aboutir à des produits ayant des propriétés de moindre qualité.

**I.11.1.8 Matériaux et investissements**

La gestion de la mammite comprend l'utilisation de matériaux et de matières premières qui coûtent chères. Les matériaux peuvent être soit renouvelables (par exemple les désinfectants et les médicaments) ou non renouvelables (par exemple une nouvelle salle de traite).

**I.11.1.9 Diagnostics**

Les coûts de diagnostic relatif à la mammite doivent être inclus dans les calculs, des frais d'instance de techniciens et de cultures bactériennes.

**I.11.1.10 Autres maladies**

Les vaches atteintes de mammite sont une source constante d'infection due à l'effusion de bactéries.

**I.11.1.11 Abattage**

Une vache est abattue quand le remplacement est la décision optimale ; la réforme prématurée réduit la vie productive du bétail et engendre des coûts de remplacement des vaches. Les vaches, avec une mammite, ont un risque plus élevé d'être abattues. Il y a une valeur basse pour la viande des vaches de réforme, suite à un rendement de carcasse et une qualité réduite.

En outre, la mammite était parmi les principales raisons identifiées de mortalité de la vache (Rollin et *al.*, 2015). Dans le contexte Tunisien, 30 % des vaches laitières sont réformées à cause des mammites (M'Sadak et *al.*, 2013).

### **I.11.2 Les estimations des coûts de la mammite**

Parmi les maladies animales qui affectent la rentabilité de l'élevage des animaux, la mammite est considérée comme l'une des maladies coûteuses en termes de perte de production (Sinha *et al.*, 2014). Du point de vue économique, la mammite représente l'une des causes les plus importantes pour les éleveurs bovins laitiers (M'Sadak *et al.*, 2013).

La perte économique due à la mammite chez les bovins laitiers est estimée à \$ 185 / vache / an aux États-Unis. Elle totalise plus de 2 milliards de dollars par an aux États-Unis. En fait, un seul quartier infecté pendant l'allaitement peut réduire la production de lait d'une vache de 10 à 12% (Akers *et al.*, 2011).

Au Royaume-Uni, la mammite entraîne une perte annuelle d'environ £ 300 millions aux producteurs laitiers. Dans la République d'Irlande, le coût de la mammite clinique est d'environ 693 € par an pour chaque vache infectée. Aux Pays-Bas, le coût moyen par vache infectée varie entre 164 € et € 235 (Viguier *et al.*, 2009).

En Algérie, l'impact économique de la production laitière dans la wilaya de Blida dans le centre du pays pour l'année 2008 montre une perte en production laitière comprise dans l'intervalle de 7 357 370 et 10 455 210 de litres. Elle équivaut à une perte financière comprise entre 323 724 280 DA et 460 029 240 DA, soit une perte financière comprise entre 4,05 et 5,7 millions de dollars US (à raison de 1 \$ US = 80 DA).

Sur la base d'une production laitière nationale pour l'année 2008 de  $2,207 \times 10^9$  litres, la perte nationale en production laitière serait comprise dans l'intervalle  $419,33 \times 10^6$  et  $595,89 \times 10^6$  litres. Elle équivaut à une perte financière comprise entre 18 450 520 000 DA et 26 219 160 000 DA, soit une perte financière comprise entre 230,6 et 327,7 millions de dollars US (Kebbal *et al.*, 2010).

### **I.12 La mammite et la qualité du lait cru, la sécurité et le rendement**

La mammite est la maladie la plus fréquente dans les troupeaux laitiers et elle est la principale source de pertes économiques dans la production de lait dans le monde entier (Le Marechal *et al.*, 2011). La mammite, en particulier le type subclinique, est la maladie la plus persistante et elle est largement répandue ; importante pour l'hygiène du lait (Coulon *et al.*, 2002). La santé de la mamelle peut avoir un effet profond sur les caractéristiques de qualité, et de quantité (Auldist, 2011).

Au-delà des questions de santé animale et de sécurité alimentaire, la mammite est également un problème en raison des changements induits du lait. La composition du lait peut

---

être affectée par un large éventail de facteurs : la race, l'âge, le stade de lactation, et le régime alimentaire de l'animal (Le Marechal et *al.*, 2011).

La mammite modifie la composition du lait et son utilisabilité technologique (Coulon et *al.*, 2002).

### **I.12.1 Le nombre de cellules somatiques**

L'indicateur le plus largement utilisé de la santé du pis est le comptage des cellules somatiques, une mesure du nombre de globules blancs, appelés leucocytes, dans le lait (Auldist 2011).

Après une longue discussion entre les commissions internationales (FDA etc.), on peut affirmer que le nombre de cellules normales d'un quartier sain est d'environ 100 000 cellules par ml de lait (Hamann et *al.*, 2002 ; Smith, 2002).

Le nombre de cellules somatiques dans du lait des quartiers non infectés est typiquement <100.000 cellules / ml, alors que dans les quartiers infectés, il pourrait être jusqu'à plusieurs millions de cellules par millilitre. Ils ont estimé que 15 à 40 cas subcliniques peuvent être trouvés pour chaque cas clinique (Brand et *al.*, 2010). La mammite subclinique augmente le nombre de cellules somatiques et réduit la production de lait des vaches laitières. Les pertes se produisent en raison de dommages causés par des micro-organismes aux tissus sécrétoires de la glande mammaire et la rupture des jonctions cellulaires, ce qui peut entraîner la perte permanente de capacité de synthèse du lait (Gonçalves et *al.*, 2016).

Beaucoup d'entreprises de transformation du lait à travers le monde ont intégré le comptage de cellules somatiques comme un paramètre clé à la production du lait (Auldist, 2011). Et par conséquent, il est une composante importante du lait en termes de qualité, d'hygiène, et de contrôle de la mammite (Ogola et *al.*, 2007).

Selon Burgess et *al.*, (2010) la présence d'un nombre important de cellules somatiques (principalement les cellules sanguines qui combattent l'infection), est donc une preuve de la présence d'une mammite dans le troupeau, et elle est une source de préoccupation pour l'industrie laitière pour deux raisons :

- 1) La présence de la mammite est un indicateur que la santé du troupeau n'est pas aussi bonne qu'il se doit, et donc un sujet de préoccupation en ce qui concerne la santé et le bien-être des animaux.
- 2) Les vaches atteintes de mammite donnent du lait inférieur du point de vue qualité et salubrité. Cela peut se manifester selon les manières suivantes :
  - Activité enzymatique des bactéries envahissantes qui provoquent une dégradation de la matière grasse et des protéines du lait.

- Présence d'agents pathogènes (bactéries infectantes)
- Rendement réduit de certains produits manufacturés (par exemple, le fromage)
- Défauts de saveur (le rancissement).

Cependant, il y'a d'autres facteurs que l'infection intra mammaire qui affecte la concentration des cellules somatiques, par exemple, la parité, la race, et la production de lait (Nyman et *al.*, 2014).

### **I.12.2 Effets de la mammite sur la qualité du lait cru, de la sécurité et du rendement**

Les plus importants effets de la mammite comprennent des changements à la qualité et la sécurité du lait cru et une baisse de rendement du lait.

#### **I.12.2.1 Qualité du lait cru**

Les produits à base de lait contribuent de manière significative au régime global alimentaire humaine dans de nombreuses régions du monde. Le lait cru n'est pas très bien défini. Ainsi, tout le lait extrait de la glande mammaire non chauffé au-dessus de 40C° peut être caractérisé comme du lait cru (Hamann et *al.*, 2010).

D'une manière générale, la qualité est l'aptitude d'un produit à satisfaire complètement les besoins et les attentes des utilisateurs. (ISO 22000).

Le nombre de cellules somatiques, est inclus comme un paramètre dans la définition de la qualité du lait. Tant que le nombre de cellules est de moins de 100.000 cellules par ml de lait sécrétées dans un quartier sain, la composition du lait peut être caractérisée comme physiologique (se trouve dans la fourchette normale) (Hamann et *al.*, 2010).

La qualité du lait peut être évaluée en mesurant les paramètres qui indiquent à la fois son aptitude à la consommation ou à la transformation en produits laitiers et de l'état de santé de la vache ou d'un troupeau produisant du lait (Kelly et *al.*, 2011).

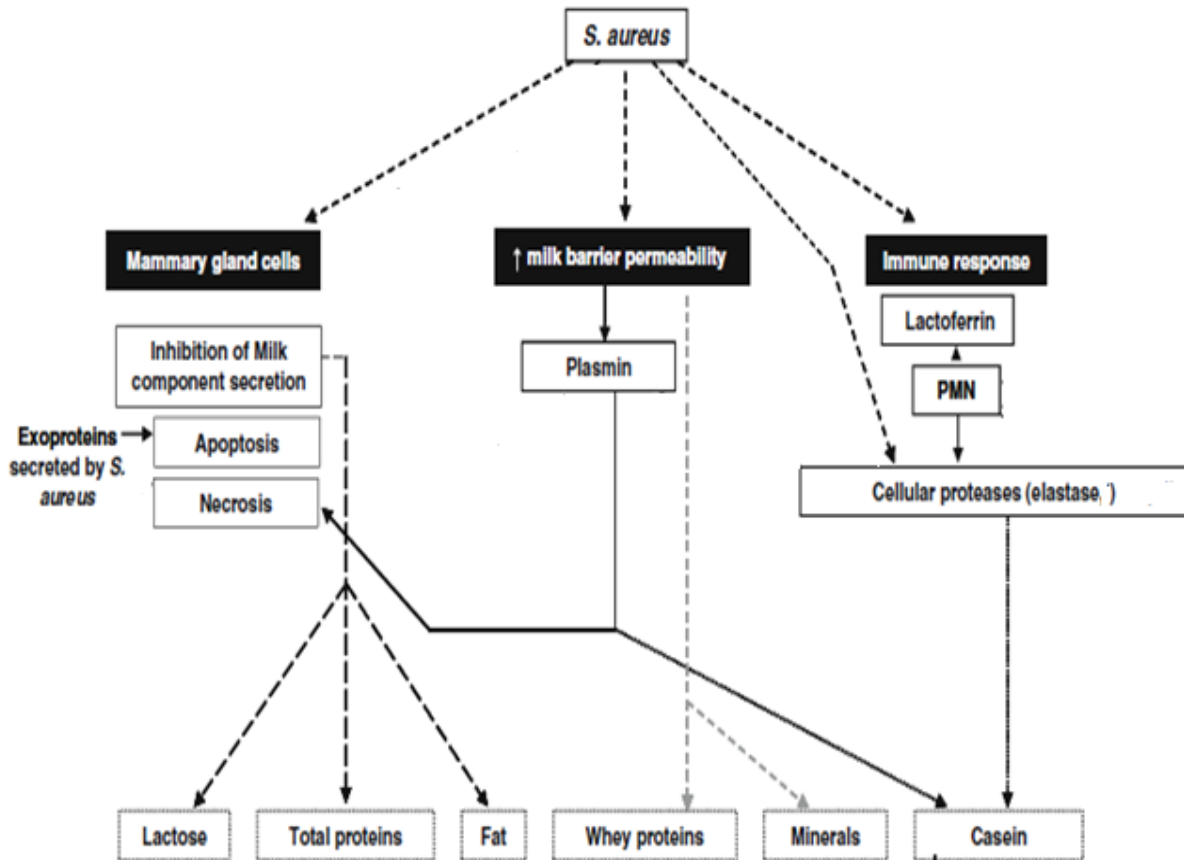
En conséquence, la définition et le développement de méthodes de détection du lait anormal ont porté principalement sur les compétences organoleptiques des trayeurs, altérations visuelles particulièrement en ce qui concerne sa couleur et l'homogénéité (Brandt et *al.*, 2010).

De nombreux rapports ont décrit les changements dans la production du lait ou de la composition sont associés avec la mammite. En ce qui concerne le contrôle de qualité, l'augmentation du nombre de cellules somatiques dans le lait est le principal marqueur pour la détection et le diagnostic de la mammite (Viguiet et *al.*, 2009).

L'augmentation des cellules somatiques du lait est associée avec l'altération de la qualité des protéines, la modification de la composition d'acide gras, le lactose, et la concentration



minérale, l'augmentation de l'activité enzymatique, et un pH plus élevé du lait cru (Coulona et *al.*, 2002 ; Ogola et *al.*, 2007).



**Figure 11. La relation entre les infections intra mammaires aux *Staphylococcus aureus*, les réponses induites par la glande mammaire et les changements observés sur les composants du lait (Le Marechal et *al.*, 2011).**

L'inflammation de la glande mammaire durant la mammite provoque une gamme de modification physique, microbiologique, et chimique dans le lait. Cela comprend la variation de la composition chimique du lait, et parce que les différents composants du lait ont des propriétés fonctionnelles différentes, ce qui conduit à des changements dans les propriétés de traitement du lait (Auldist, 2011).

Néanmoins, des modifications dans le lait se produisent non seulement en réponse à la mammite subclinique. Influences de jour de lactation, l'intervalle de traite, la fraction d'échantillonnage du lait, et l'âge de la vache doivent être pris en considération pour l'interprétation détaillée (Brandt et *al.*, 2010).

#### **I.12.2.2 Salubrité du lait cru**

La salubrité du lait cru est une partie de l'hygiène alimentaire, en plus de la protection et de la conservation des aliments.

---

Relative à ISO 22000, la salubrité c'est l'assurance que les aliments sont acceptables pour la consommation humaine conformément à l'usage auquel ils sont destinés. La salubrité du lait cru est déterminée principalement par les conditions d'hygiène dans l'exploitation, y compris l'équipement de la traite et de l'état de santé de la vache laitière.

La première priorité de la sécurité du lait cru est le risque de contamination bactérienne, dans la mesure où la mammite est la plus préoccupante (Hamann et *al.*, 2010).

Les vaches atteintes de mammite détectée représentent également un risque d'infection pour les autres vaches. Nous croyons que la plupart des agriculteurs aimeraient identifier les quartiers infectés pour le développement économique ainsi que pour des fins de santé du troupeau. La mammite devrait être détectée de manière fiable et en temps opportun pour éviter que la mammite subclinique ne se développe en maladie clinique (Hovinen et *al.*, 2011).

Les origines du lait anormal sont soit des dommages tissulaires de trayons (lait tâché de sang) ou des inflammations de la mamelle cliniques (principalement des flocons et des caillots, et potentiellement dans le sang). Une tâche de sang de 0,1% de sang mélangé avec du lait peut être détectée de manière fiable par les consommateurs, et les professionnels (Brandt et *al.*, 2010).

Différents types d'échantillons du lait peuvent être analysés pour le comptage des cellules somatiques, en fonction du motif de test :

- 1) Le lait d'un quartier individuel d'une seule vache ;
- 2) Un mélange du lait des quatre quartiers d'une vache individuelle ;
- 3) Lait d'une citerne de ferme, contenant un mélange de lait de toutes les vaches dans le troupeau.

Pour un échantillon d'une vache individuelle, le comptage des cellules somatiques reflète directement la migration des leucocytes dans le lait (transfert à travers le sang / barrière de lait) et reflète donc l'état de santé de la vache, et en particulier l'apparition de la mammite. Le comptage des cellules somatiques du lait de tank donne une indication sur la santé globale et la production moyenne du troupeau (Kelly et *al.*, 2011).

### **I.12.2.3 La production de lait**

Si un quart souffre de mammite, en fonction de son type (clinique ou subclinique) et le degré (suraguë, aiguë, chronique) de la maladie, une diminution de la production du lait dans une gamme significative de 10% à plus de 80% est observable.

L'activité de la sécrétion du lait (kg de lait) est identique pour les quartiers avant ainsi que pour les deux quartiers arrière (Woolford, 1985).

---

Cette situation est valable si tous les quartiers sont en bonne santé. La mammite va changer la situation, le quartier infecté va diminuer la production du lait, mais les quartiers sains avoisinants seront, capables de réagir avec une augmentation de rendement de compensation d'environ la moitié de la perte du rendement du quartier infecté (Hamann et *al.*, 1990).

Les conséquences de la mammite sont la perte de lait, le travail supplémentaire et des efforts supplémentaires pour le traitement vétérinaire, qui se montent à 17 € par an (Bludau et *al.*, 2014).

La mammite peut entraîner un effet négatif à long terme sur la santé de la mamelle et est associée à un taux de réforme accrue, augmentant ainsi les coûts d'élevage (De Vliegheer et *al.*, 2012).

Autres facteurs de risque identifiés pour la mammite sont : la saison, la nutrition et la génétique (Archer et *al.*, 2013).

Selon Hospido et *al.*, (2005), en termes économiques, la mammite peut généralement être considérée comme la maladie la plus grave des vaches laitières. Cependant, la mammite est une question économique, en impliquant deux types de pertes de lait :

- lait de faible qualité qui doit être écarté car il est impropre à la consommation humaine et
- la réduction du rendement de production.

La mammite réduit la production du lait de 10-25% par vache. Cette baisse de la production du lait est due à des dommages physiques aux cellules épithéliales de la glande mammaire, ce qui limite la capacité de synthèse et de sécrétion de la glande (Auldist, 2011).

### **I.13 Le lait cru une menace pour la santé publique**

Le lait destiné à la consommation humaine a été défini en 1909 par le congrès international de la répression des fraudes alimentaires à Genève : « est le produit intégral de la traite totale ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (Benhamed et *al.*, 2011).

La consommation de lait cru n'est pas bien documentée, mais dans le contexte de la tendance actuelle à « consommer naturel » et « achat local », la consommation de lait cru est de plus en plus populaire. Ceci est nourri par la perception que le chauffage détruit les avantages nutritionnels et sanitaires du lait, et peut même induire des effets néfastes (Claeys et *al.*, 2013).

#### **I.13.1 Source du danger**

Bien que le lait soit un élément important dans une alimentation saine, si consommé cru, il peut présenter un danger pour la santé en raison de la contamination possible par des bactéries pathogènes. Ces bactéries peuvent provenir des animaux cliniquement sains avec une mammite

---

subclinique, le lait produit sans aucun changement visible, est accidentellement mélangé dans le lait en vrac ; il entre dans la chaîne alimentaire et peut être dangereux pour les humains (Angulo et al., 2009).

Le lait et autres produits laitiers sont souvent infectés par des *Staphylococcus aureus*, et la glande mammaire bovine peut être un important réservoir de ses souches (Hameed et al., 2007). Le danger pour la santé publique est particulièrement lié à la capacité de 50 % de ces souches de produire des entérotoxines thermostables associés à une intoxication alimentaire (Bendahou et al., 2008). Certaines souches produisent des toxines, qui peuvent conduire à un syndrome de choc toxique ou d'intoxication alimentaire. On estime que l'intoxication causée par *Staphylococcus aureus* occupe le troisième rang sur les causes d'empoisonnement alimentaires communes (El-Ashker et al., 2015).

Selon Jamali et al., (2015), plusieurs épidémies d'origine alimentaire d'intoxications à *Staphylococcus aureus* ont été documentées pour être associées à la consommation de différents types d'aliments contaminés. Le développement d'une maladie, après avoir consommé du lait cru contaminé, dépend de plusieurs facteurs tels que la pathogénicité du micro-organisme, le nombre de micro-organismes ingérés, et l'état de santé du consommateur (Lund et al., 2011).

### **I.13.2 Risques liés à la consommation de lait cru**

La déclaration épidémiologique des espèces bactériennes zoonotiques telles que *Staphylococcus aureus* nécessite de mettre en place des techniques simples et rapides pour connaître la situation réelle de cet agent pathogène dans l'étape de contrôle de la propagation des bactéries zoonotiques entre les animaux et les humains (Radwan et al., 2015).

La proximité des humains et des animaux dans l'environnement laitier présente des opportunités pour la transmission de bactéries entre eux. Dans la mesure où le transfert des bactéries zoonotiques est préoccupant du point de vue de la santé humaine ; le scénario du transfert anthroponotique inverse de bactéries des humains aux animaux existe aussi. Il est donc important que les populations bactériennes à l'interface animal-humain doivent être surveillées (Schmidt et al., 2015). Autres chercheurs adoptent et documentent le transfert de *Staphylococcus aureus* humaine aux bovins (Resch et al., 2013).

Les fermes laitières forment un environnement idéal dans lequel les bactéries sont soumises à des traitements antimicrobiens, et la pression de la sélection subséquente pourrait favoriser la sélection et la diffusion de souches résistantes (Saini et al., 2012).

En principe, toute utilisation des antibiotiques augmente le risque de sélection de résistance (Wallmann et al., 2003). Près de la moitié des antibiotiques actuellement utilisés dans les pays développés sont utilisés dans l'agriculture, y compris de nombreux antibiotiques destinés à

---

traiter les maladies humaines. Cette utilisation peut favoriser la résistance aux antibiotiques chez les bactéries qui sont communes chez les animaux et qui causent la maladie chez les humains (Valsangiacomo et al., 2000).

L'évaluation de la sensibilité aux antimicrobiens des isolats de Staphylocoques récupérés de l'infection intra mammaire est importante pour guider le traitement thérapeutique des animaux infectés. En outre, la surveillance de la résistance aux antimicrobiens de *Staphylococcus. spp* chez les animaux est importante du point de vue de la santé publique (Schmidt et al., 2015). L'inquiétude grandit à propos de l'utilisation d'antimicrobiens chez les animaux et son rôle potentiel dans la création de réservoirs de bactéries résistantes qui peuvent être transférées de l'animal à des populations humaines le long de la chaîne alimentaire (Saini et al., 2012).

De par l'impact des mammites sur la santé animale, la santé humaine peut se trouver en danger par la présence des résidus d'antibiotiques résultant du traitement des mammites (M'Sadak et al., 2013). Les résidus d'antibiotiques dans les aliments peuvent conduire à des réactions graves chez les personnes allergiques aux antibiotiques et, à des niveaux faibles, peuvent entraîner une sensibilisation des individus et le développement de souches résistantes aux antibiotiques de bactéries normales (Hameed et al., 2007).

Malgré son importance économique et de santé publique, la mammite n'est pas une maladie bien considérée en Algérie.

### **I.14 Le traitement de la mammite subclinique**

Le traitement de la mammite subclinique pendant l'allaitement n'a pas été considéré comme rentable (Erskine et al., 2003).

Le traitement n'a pas été indiqué, à moins que le taux d'infection très élevé mette en danger la commercialisation du lait. Le coût de la thérapie et le lait jeté au cours de la période de retrait réduit sérieusement le bénéfice de la thérapie (Du Preez et al., 2000).

Il existe deux types de traitements de la mammite bovine, soit les médicaments à utilisation en période de tarissement, soit ceux à utilisation en période de lactation (Radostits et al., 1995).

La grande différence réside dans la persistance de l'antibiotique dans la glande mammaire après l'injection. Un traitement donné durant la période de lactation aura une diffusion ainsi qu'une élimination rapide. Les médicaments de tarissement se donnent une fois au début de cette période. Leur présence dans la glande sera prolongée, empêchant l'implantation de nouvelles infections ainsi que l'élimination des micro-organismes causant des mammites chroniques datant de la lactation précédente (Eberhart, 1986).

---

Les infections intra mammaires à *Staphylococcus aureus* ont tendance à devenir chroniques et les traitements aux antibiotiques se caractérisent par un faible taux de guérison (10% et dépassent rarement 40-50%) (Boutet et *al.*, 2006).

Dans de nombreux cas de mammite subclinique, une fibrose extensive et la formation de micro abcès sont présents dans la glande, ce qui peut rendre la distribution des applicateurs de médicaments intra mammaires difficile (Sandgren et *al.*, 2008).

Le succès de la thérapie de la mammite est plus faible chez les vaches laitières que chez les vaches sèches, en particulier pour la mammite staphylococcique. L'efficacité d'un traitement au tarissement est comprise entre 50 et 70 % (Du Preez et *al.*, 2000).

Habituellement, le traitement d'une mammite à Staphylocoques dépend de la durée (6 injections à 12 heures d'intervalle semblent indispensables), et son association avec un traitement par voie générale (l'injection journalière intramusculaire d'un antibiotique pendant 3 jours augmente les chances de guérison).

La réussite d'un traitement d'une mammite à Staphylocoques dépend de plusieurs facteurs : l'âge de l'animal (diminution avec l'âge), la position du trimestre et du stade de lactation (Sol et *al.*, 1997).

#### **I.14.1 La prévention de la mammite**

La meilleure façon de réduire la prévalence de la mammite est d'empêcher une nouvelle infection intra mammaire, plutôt que le traitement des nouveaux cas. Aussi, rien ne vaut de traiter la mammite subclinique lorsque les facteurs prédisposant ont été limités ou éliminés (Du Preez et *al.*, 2000).

D'après Deluyker et *al.*, (2005) ; en lactation, le traitement sera donc surtout préventif et axé sur l'hygiène de la salle de traite, le trempage des trayons après la traite, le contrôle des maladies infectieuses autour du vêlage, les machines à traire bien adaptés, et un bon contrôle des maladies infectieuses à la traite.

Les stratégies de prévention dépendent du système de gestion du troupeau (à savoir la traite conventionnelle ou la traite mécanique, stalles entravées ou un logement libre).

Il est préférable d'intervenir davantage sur les primipares puisqu'elles présentent un taux de guérison plus élevé que les multipares, et d'intervenir dans un stade précoce de l'infection intra mammaire.

La réforme de l'animal s'avérera souvent la meilleure solution en cas d'infection du troupeau (Hanzen, 2015).

---

---

## **Chapitre II : Matériels et Méthodes**

---

---

## II.1 Hypothèse du travail

Suite à la généralisation de l'antibiothérapie pour le traitement des mammites, des résultats surprenants sont produits, mais avec l'élaboration du phénomène de l'antibiorésistance des germes. La consommation du lait cru des vaches avec des mammites subcliniques serait le principal facteur de risque identifié. C'est un outil de transmission de bactéries résistantes aux antibiotiques, pouvant passer inaperçues vers l'homme et compromettant ainsi la sécurité alimentaire.

## II.2 Objectifs de l'étude

### II.2.1 Objectifs principaux

- Établir une première approche des mammites, en particulier les mammites subcliniques dans le troupeau de de la région de Sidi-Bel-Abbes pour quantifier l'importance et l'actualisation des connaissances épidémiologiques.
- Décrire le diagnostic étiologique des mammites subcliniques en utilisant le diagnostic épidémiologique et le diagnostic bactériologique dans les fermes laitières de la région de Sidi-Bel-Abbés.
- Mesurer la prévalence de la mammite subclinique, et le taux de multi résistance au sein des *Staphylocoques* spp. et plus précisément des *Staphylococcus aureus* putatifs dans les exploitations laitières.

### II.2.2 Objectif secondaire

- Identifier les principaux facteurs de risque liés à l'installation des infections mammaires, particulièrement les mammites subcliniques à *Staphylocoques* multi résistance.

## II.3 Enquête épidémiologique

### II.3.1 Type, lieu et période de l'étude

Il s'agit d'une étude de type transversal à vise analytique (étude de la prévalence), à un moment donné sur un cliché d'une population (les sujets inclus ne sont pas suivis dans le temps), réalisée au niveau des fermes laitières dans les périmètres de la région de Sidi-Bel- Abbés située à l'ouest de l'Algérie 433 km de la capitale, au cours de la période allant de mai 2013 à Juillet 2015, elle couvre donc une durée de 27 mois. Durant cette période, 20 visites ont donné lieu à des prélèvements. Les vaches en période de lactation dans des fermes d'élevage laitier de la région de Sidi-Bel-Abbés ont été examinées.

Suivi d'une étude étiologique, transversale à vise de déterminer les facteurs favorisants (Odds ratio).



### **II.3.1.1 Population d'étude**

Dans notre enquête l'unité épidémiologique utilisée est le quartier. Notre population se compose de vaches au moins primipares et les multipares sont choisies selon l'objectif, qui est l'étude des infections subcliniques au moment de la lactation.

### **II.3.2 Collecte des données**

La stratégie de surveillance est basée sur l'approche clinique, par l'observation de l'état général de l'animal, et l'étude clinique des mamelles (Annexe A).

L'examen clinique est réalisé en trois temps :

- Examen visuel de la mamelle
- Palpation de la mamelle
- Examen visuel des sécrétions mammaires.

L'examen clinique de la mamelle et du lait permet de mettre en évidence un processus inflammatoire qui peut être induit par une infection (L'utilisation régulière d'un bol à fond noir peut faciliter la tâche).

Les données collectées sont :

- Le numéro de la vache ;
- Les résultats de comptages cellulaires pour les 4 quartiers ;
- Le quartier atteint ;
- La date de détection de la mammite qui est aussi la date de réalisation du prélèvement.

#### **II.3.2.1 Facteurs de risque**

Il s'agit des facteurs suivants :

- Âge ;
- Stade de la lactation ;
- Rang de la lactation ;
- Saison ;
- Race ;
- Vêlage.

#### **II.3.2.2 Critères de définition de la mammite subclinique**

L'étude des mammites subcliniques fait appel à la recherche de témoins de l'inflammation (comptage de cellules somatiques) et / ou des agents pathogènes dans le lait. Ce type de mammite est asymptomatique : il n'y a donc pas de signes généraux, de modifications de la mamelle et de modification de la sécrétion. Un test CMT positif à partir de 900000 cellules/ml

et une bactériologie positive seront les critères pour identifier les animaux atteints de mammite subclinique.

### **II.3.2.3 Critères d'inclusion et d'exclusion**

Parmi toutes ces vaches, une sélection a été entreprise à partir des critères énoncés ci-dessous :

#### **II.3.2.3.a) Critères d'inclusion**

- Vaches ayant vêlé ;
- Vaches dont le comptage cellulaire avec au moins un quartier positif pour un score  $\geq 2$ .

#### **II.3.2.3.b) Critères d'exclusion**

- Vaches ayant avorté ;
- Vaches présentant au moins une mammite clinique (une modification du quartier, une douleur au toucher de la mamelle, et une modification apparente du lait avec des grumeaux) ;
- Vaches ayant une maladie intercurrente ;
- Vaches ayant reçu un traitement anti-infectieux ou anti-inflammatoire.

### **II.3.3 Les documents et recueil des données**

Une enquête épidémiologique est réalisée à chaque visite du troupeau : les données de chaque vache choisie ont été recueillies à l'aide d'un questionnaire normalisé d'une façon exhaustive ; le questionnaire a été déjà utilisé dans l'étude d'Elmoslemany et *al.*, (2010). Le questionnaire est rempli en temps réel, en interrogeant le personnel s'occupant des élevages et en assistant à toutes les étapes de la traite.

Les indicateurs mesurés dans notre étude de recherche de la résistance aux antibiotiques sont :

- Le taux de résistance aux antibiotiques dans une population bactérienne ;
- La prévalence de la résistance aux antibiotiques dans une population animale.

## **II.4 Description de l'échantillon de l'étude**

### **II.4.1 Prélèvement**

La mamelle saine n'héberge pas de flore commensale. La valeur de l'examen bactériologique des laits de mammites dépend en grande partie de la qualité du prélèvement (Hanzen, 2015).

#### **II.4.1.1 L'unité du prélèvement**

Chaque quartier est considéré indépendamment des autres quartiers de la même vache. L'analyse doit se faire quartier par quartier, le mélange étant ininterprétable (Hanzen, 2015).

##### **II.4.1.1.a) Moment du prélèvement**

Deux types de prélèvement du lait ont été réalisés sur chaque quartier avant la traite de l'après-midi. Le prélèvement est soumis à un examen de comptage cellulaire et si le score de CMT est  $\geq 2$ , donc un cas de mammite subclinique est ainsi défini, et il est alors le point de départ pour un prélèvement pour l'examen bactériologique. Le volume prélevé est de 20 millilitres environ.

#### **II.4.2 Réalisation du prélèvement**

La qualité du prélèvement dépend de la technique de l'opérateur (Mialot, 1983 ; Markey, et *al.*, 2013 ; Cockcroft, 2015). Les principaux points en vue d'une bonne technique de prélèvement sont les suivants :

- Lavage des mains ;
- Lavage et séchage des trayons ;
- Désinfection de l'extrémité du trayon à l'aide d'un coton imbibé d'alcool à 70° ;
- Élimination du premier jet de lait ;
- Effectuer la collecte le plus rapidement possible ;
- Tenir le flacon de collecte stérile presque horizontalement et maintenir le couvercle dans le creux du petit doigt de sorte que le couvercle ne soit contaminé ;
- Identifier aussitôt le flacon avec la date, le numéro de la vache et le quartier prélevé.

Lorsque l'on prélève plusieurs quartiers, on respecte un ordre de prélèvement inverse de l'ordre de désinfection, afin d'éviter de toucher un trayon non encore prélevé avant de le prélever (Annexe D).

#### **II.4.3 Conservation et traitement des prélèvements**

Les prélèvements effectués, au cours des visites étaient placés temporairement dans une boîte isotherme, puis réfrigérés et conservés à +4°C jusqu'à l'arrivée aux Laboratoires.

### **II.5 Le test CMT**

Le test CMT est réalisé selon la recommandation du (Radostits et *al.*, 2006 ; Markey et *al.*, 2013 ; Cockcroft, 2015) ; c'est une méthode indirecte pour évaluer la concentration des cellules somatiques sur des échantillons de lait individuels. Il s'agit là d'une méthode semi-quantitative, c'est un test rapide réalisé à la ferme sous la vache. Un résultat positif (score  $\geq 2$ ) indique une

probabilité élevée d'avoir une concentration cellulaire dans le quartier, supérieure à 800 mille cellules/ml.

### II.5.1 Principe

Le test CMT est basé sur l'ajout au lait d'un volume égal d'un détergent tensio-actif : la solution de Na-Teepol. Ce dernier agit en provoquant la lyse des cellules présentes dans le lait. La destruction ou la décomposition des parois cellulaires libère l'ADN (le détergent dissout la graisse) et augmente la viscosité du lait en provoquant la formation d'un flocculat plus ou moins marqué (ADN chaîne ou gel pour former une masse fibreuse). Il possède en plus un indicateur coloré (le pourpre de bromo-crésol) qui vire au bleu-violet.

### II.5.2 Technique de réalisation

Environ 2 ml de lait de chaque quartier sont prélevés dans chacune des quatre alvéoles identifiées de la cupule A, B, C, et D correspondant respectivement aux quartiers avant droit, arrière droit, avant gauche et arrière gauche, fournis avec le réactif. Après ajout de 2 ml de Teepol (le laurylsulfate de sodium) dans chaque coupelle, un mouvement circulaire est appliqué au plateau pendant quelques secondes pour mélanger le lait avec le réactif. La réaction produit une gélification en quelques secondes (Annexe E).

### II.5.3 Lecture et interprétation

On apprécie la présence ou non du flocculat et son intensité. La lecture et l'interprétation du test CMT se font en référence au tableau de lecture (Tableau 16). Celui-ci permet d'évaluer le résultat.

**Tableau 16. Interprétation du test CMT selon les indications accompagnant le réactif (Markey *et al.*, 2013 ; Cockcroft, 2015)**

Lecture		Interprétation			
		Score		Infection	RNCM(x10 <sup>3</sup> ml)
Aspect	Valeur	Croix			
Consistance normale, couleur grise	0	(0)	Absente	100	
Léger gel disparaissant après agitation, couleur violacée	1	(±)	Risque d'infection par pathogène mineur	300	
Léger gel persistant, filamenteux, couleur gris violet	2	(+)	Mammite subclinique	900	
Épaississement immédiat, visqueux au fond de la coupelle	3	(++)	Mammite subclinique	2700	
Gel épais, consistance d'œuf, couleur violet foncé	4	(+++)	Mammite subclinique à limite de l'expression	8100	

RNCM : Relation avec la numérotation cellulaire moyenne

## **II.6 Les analyses de laboratoire**

Les analyses microbiologiques ont été réalisées au laboratoire de Microbiologie du Département de l'Agronomie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Djilla Li Liabes de Sidi-Bel-Abbés, Algérie. Les tests supplémentaires ont été effectués dans le Laboratoire Vétérinaire Régional de Tlemcen, Algérie.

### **II.6.1 L'enquête microbiologique du lait de mammite**

L'examen bactériologique peut renseigner sur l'état sanitaire des mamelles, pour déterminer :

- Les principaux agents pathogènes provoquant la mammite ;
- Le pourcentage de vaches porteuses de mammite subcliniques ;
- Les profils de sensibilité aux antibiotiques des pathogènes majeurs.

### **II.6.2 Les analyses bactériologiques**

Les méthodes utilisées dans la recherche et l'identification des germes présents dans le lait sont des méthodes de routine décrites par Quinn et *al.*, (2011) et Markey et *al.*, (2013).

### **II.6.3 Ensemencement et isolement**

Notre étude est régie spécialement sur les souches de Staphylocoques impliquées dans la mammite subclinique.

À l'arrivée du prélèvement au laboratoire, on ensemence une gélose Columbia additionnée de 5 % de sang de mouton par un inoculum de 50 à 60 µl de lait en parallèle avec la gélose Chapman. Le premier milieu permet d'isoler la majorité des espèces bactériennes potentiellement responsables de mammites, et le deuxième est un milieu sélectif pour les Staphylocoques.

Les 02 milieux sont ensuite placés à l'étuve à 37°C. Deux lectures sont réalisées respectivement à 24 et à 48 heures car certaines colonies ne deviennent visibles qu'après 36 à 48 heures d'incubation. Une première orientation a été réalisée après vérification de l'absence de contamination par coloration de Gram et les tests de catalase et de l'oxydase.

### **II.6.4 Identification phénotypique**

L'identification du genre est effectuée par l'aspect de colonies sur gélose et la fermentation du mannitol sur le milieu Chapman. Les Staphylocoques apparaissent ainsi comme des coques, à Gram + et catalase +.

L'identification des Staphylocoques fait recours à différents tests biochimiques (Bannerman et *al.*, 2007 ; Denis et *al.*, 2011 ; Carl, 2014).

Le but de cette partie est de caractériser phénotypiquement les souches de Staphylocoques isolées à partir des cas de mammites subcliniques.

### **II.6.5 Le system API**

Les colonies présumées ont été confirmées par la caractérisation biochimique utilisant le système API-20-Staph (BioMérieux, Marcy-France).

#### **II.6.5.1 Intérêt clinique**

Les tests effectués en tube de 15 ou 20 ml ont été progressivement remplacés depuis de nombreuses années par des tests biochimiques miniaturisés en galerie. API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, comprenant une base de données (Jamali et al., 2014 ; Ruegg et al., 2015).

#### **II.6.5.2 Principe**

La galerie API Staph comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les substrats sont reconstitués par l'ajout d'une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés donc ce sont des tests colorimétriques ou révélés par l'addition de réactifs (Bannerman et al., 2007).

#### **II.6.5.3 Méthode**

L'organisme a été sous cultivé sur gélose Columbia au sang à 37 °C pendant 18-24 heures. Inoculer une colonie pure et bien isolée dans le milieu API Staph pour faire une suspension bactérienne homogène avec une turbidité équivalente à 0,5 McFarland et cette suspension a été utilisée immédiatement après la préparation (Markey et al., 2013).

#### **II.6.5.4 Résultat**

L'Index analytique du profil (API ; BioMérieux) est le système le plus populaire pour le diagnostic bactériologie dans le monde. L'identification est obtenue par le numéro à 7 chiffres généré par la feuille de données de la bande profil de l'API- 20-Staph tester. La lecture du profil numérique est obtenue par la version du logiciel apiweb 4.1 (El-Seedy et al., 2012).

### **II.7 Les facteurs de virulences**

Du point de vue épidémiologique, la présence de souches virulentes de *S. aureus* dans le lait de mammité donne une importance pour détecter et caractériser ces souches, et contrôler et réduire la diffusion de la maladie dans les troupeaux laitiers. *S. aureus* produisent un grand nombre de facteurs de virulence jouant un rôle important dans les différentes étapes de la pathogénie de la mammité (Coelho et al., 2011 ; Abdeen et al., 2015).

### **II.7.1 Le test à la coagulase**

#### **II.7.2 Intérêt clinique**

Dans la clinique, les staphylocoques sont différenciés sur la production de la coagulase libre (Bannerman et *al.*, 2007 ; Carl, 2014).

#### **II.7.3 Principe**

La production de coagulase libre provoque une coagulation du plasma qui se traduit par la formation d'un culot de coagulation.

L'enzyme catalyse la formation de caillots de fibrine dans le plasma, en activant la prothrombine, qui convertit le fibrinogène en fibrine.

##### **II.7.3.1 Mode opératoire**

###### **II.7.3.1.a) Préparation du plasma**

- Prélever 10 ml de solvant à l'aide d'une pipette stérile ;
- Additionner stérilement ces 10 ml de solvant directement dans le flacon de plasma de lapin lyophilisé (Bio-Rad, France) ;
- Agiter légèrement pour favoriser la dissolution en évitant la formation de mousse.

###### **II.7.3.1.b) Préparation de l'échantillon**

- À partir d'une culture de la souche à étudier, réaliser une subculture en bouillon Staphylocoagulase ou en bouillon nutritif. Incuber la culture 18 heures à 37°C ;
- Mélanger dans un tube à hémolyse 0,5 ml de plasma reconstitué et 0,5 ml de la culture. Incuber le mélange à 37°C pendant 24 heures ;
- Réaliser un témoin bouillon-plasma, si l'on n'utilise pas le bouillon Staphylocoagulase. Selon les instructions de fabricant, certaines préparations de bouillon ordinaire, nonensemencées, mélangées au plasma de lapin, peuvent entraîner sa coagulation. Il est donc indispensable de le faire au préalable.

###### **II.7.3.1.c) Résultats attendus**

Certaines souches de Staphylocoques provoquent la coagulation du plasma en un temps variant d'une demi-heure à 24 heures. La prise en masse du plasma est généralement totale, au point que le tube peut être retourné. Un caillot moins compact visible avant la 24<sup>ème</sup> heure doit être considéré comme positif. Le milieu doit être observé toutes les heures pendant les 4 premières heures. En effet certaines souches produisent de la fibrinolysine qui lyse les zones de coagulation. Au bout de 24 heures, cette réaction peut entraîner une fausse réaction négative.

## II.7.4 Le test de Dnase

### II.7.4.1 Intérêt clinique

L'identification des Staphylocoques pathogènes, par la recherche de la désoxyribonucléase (la Dnase) (Denis et *al.*, 2011).

### II.7.4.2 Principe

La Dnase est une enzyme qui hydrolyse l'ADN (Acide Désoxyribo nucléique). La mise en évidence de la production d'une Dnase est effectuée sur une gélose contenant de l'ADN.

L'organisme hydrolyse l'ADN et l'utilise comme source de carbone et d'énergie pour la croissance.

### II.7.4.3 Mode opératoire

- À partir d'une culture de la souche à étudier, réaliser une subculture en bouillon cœur-cervele. Incuber la culture 18 heures à 37°C ;
- Sécher la surface des boîtes de pétries contenant la gélose Dnase avant utilisation ;
- Chaque boîte peut être divisée en sections en traçant des lignes sur le fond de la boîte ;
- Les bactéries sontensemencées en utilisant un inoculum lourd et en réalisant une strie à la surface de la gélose de 3-4 cm de long de jusqu'au centre de la boîte ;
- Incuber à 37 ° C pendant 18-24 h ;
- Après incubation, l'hydrolyse de l'ADN est révélée en ajoutant de l'acide chlorhydrique (HCl 1N) par inondation, celui-ci va précipiter l'ADN et donner un aspect opaque au milieu.

### II.7.4.4 Lecture

Si l'organisme qui se développe dans le milieu produit la Désoxyribonucléase, l'ADN serait dégradé, et le résultat est comme suit :

- Zone claire autour de la strie, le reste de la boîte reste opaque donc souche DNase (+) ;
- Absence de zone claire autour de la strie donc souche DNase (-).

## II.7.5 Le test Staphylect Plus

### II.7.5.1 Intérêt Clinique

Le kit Staphylect Plus (Oxoid, Basingstoke, Royaume-Uni) est un test d'agglutination au latex sur carte, qui permet de différencier les *S.aureus* possédant le clumping factor, la protéine A et des polysaccharides capsulaires, des autres staphylocoques qui ne les possèdent pas (Van Griethuysen et *al.*, 2001 ; Kozytska et *al.*, 2010 ; Soares et *al.*, 2011).



- La recherche du facteur d'affinité pour le fibrinogène (coagulase liée ou Clumping factor) : Ce test consiste en la mise en évidence du facteur d'affinité pour le fibrinogène présent à la surface des cellules ;
- La recherche de la protéine A : cette protéine A peut être retrouvée chez *S. aureus*, mais aussi chez les souches de *S. hyicus* et de rares souches de *S. intermedius*. La protéine A est associée au peptidoglycane de 90 % des souches de *S. aureus* et à la propriété de fixer le fragment FC des immunoglobulines (Ig) de l'homme et du lapin.

### II.7.5.2 Principe du test

Le test Staphytest Plus est constitué de particules de latex bleues, sensibilisées par du fibrinogène de porc et des IgG de lapin incluant des anticorps poly-clonaux spécifiques dirigés contre les polysaccharides capsulaires de *S. aureus*. Lorsqu'on mélange sur la carte le réactif avec les colonies de *S. aureus*, il apparaît une agglutination rapide due à la réaction entre le fibrinogène et le clumping factor, le fragment FC des immunoglobulines G et la protéine A, les IgG spécifiques et les polysaccharides capsulaires. L'agglutination peut aussi apparaître avec d'autres espèces possédant le clumping factor ou la protéine A telles que *S. hyicus* et *S. intermedius* (Quinn et al., 2011 ; Denis et al., 2011 ; Leboffe et al., 2012).

### II.7.5.3 Matériel

- Le réactif test (5,6 ml) : Particules de latex bleues sensibilisées par du fibrinogène de porc et des IgG de lapin contenant des anticorps poly-clonaux spécifiques dirigés contre les polysaccharides capsulaires de *S. aureus* ;
- Le réactif de contrôle (5,6 ml) : Particules de latex bleues non sensibilisées ;
- Les cartes de réaction : 35 cartes de réaction jetables sont fournies dans chaque kit.

### II.7.5.4 Méthode

- Utiliser une culture jeune cultivée sur gélose Columbia pendant 18-36 heures d'incubation ;
- Ramener le latex à température ambiante. S'assurer que le latex a été remis en suspension par agitation et expulser le latex du compte-goutte ;
- Ajouter une goutte de latex dans le cercle de réaction prévu à cet effet, et une goutte de latex de contrôle dans l'autre cercle ;
- Prélever 5 colonies de taille moyenne (équivalent 2–3 mm) et les émulsionner doucement avec le latex de contrôle. Procéder de la même façon avec le latex test ;

- Réaliser sur la carte un mouvement de rotation douce pendant 20 secondes environ et observer l'agglutination sous une lumière normale.

### **II.7.5.5 Lecture et interprétation des résultats**

#### **II.7.5.5.a) Résultat positif**

Un résultat est considéré comme positif s'il y a agglutination des particules de latex bleues en moins de 20 secondes (présence probable de *S. aureus*).

#### **II.7.5.5.b) Résultat négatif**

Un résultat négatif est obtenu s'il n'apparaît aucune agglutination et que le latex demeure uniformément bleu dans le cercle test (absence probable de *S. aureus*).

#### **II.7.5.5.c) Résultat ininterprétable**

Le test est ininterprétable si le réactif de contrôle montre une agglutination. Ceci indique que la culture provoque une auto agglutination.

## **II.8 Tests de sensibilité aux antibiotiques**

### **II.8.1 Méthode d'antibiogramme par diffusion (méthode des disques)**

#### **II.8.1.1 Principe**

L'antibiogramme par diffusion en gélose consiste à déposer des disques imprégnés d'une concentration connue d'antibiotiques sur une géloseensemencée en nappe avec la bactérie à tester. Il repose sur le principe de la compétition entre la croissance d'une bactérie et la diffusion d'un antibiotique dans un milieu gélosé. L'antibiotique diffuse à partir du disque de papier selon un gradient de concentration décroissant. Après incubation, la culture délimite autour des disques des zones d'inhibition circulaires. Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré en millimètres à l'aide d'un pied à coulisses (Quentin-Noury, 2016).

#### **II.8.1.2 But**

Selon (Caron, 2012) le but de la réalisation d'un antibiogramme est :

- 1) L'antibiogramme est un outil d'aide à la décision thérapeutique ; il aide à prévoir la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique ;
- 2) L'antibiogramme est un outil d'investigations épidémiologiques, c'est l'outil de typage bactérien le plus aisé en routine, souvent même le seul disponible. Le typage repose sur la comparaison des phénotypes de résistance, d'où le nom d'antibiotype. Donc c'est un outil de surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne, et d'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles ;

- 3) L'antibiogramme, est un outil d'aide à la politique antibiotique par ses résultats ; il collecte les données sur les bonnes pratiques d'utilisation des antibiotiques et pour cerner l'écologie globale ou particulière de populations.

### II.8.1.3 Milieu

La gélose utilisée est une gélose Mueller-Hinton et son épaisseur doit être de 4 mm. La composition du milieu gélosé est importante car des modifications de composition peuvent avoir des conséquences sur le résultat des tests de sensibilité pour certains antibiotiques (CLSI, 2008).

### II.8.1.4 Technique

Les tests de sensibilité ont été réalisés par disque (Bio-Rad, France) et jugés conformément à l'Institut de Standards Cliniques et des Laboratoires (CLSI, 2008).

*S. aureus* et les souches de Staphylocoques à coagulase négative, isolées à partir des échantillons de lait de mammite, ont été inspectées pour leur comportement de sensibilité contre divers agents antimicrobiens utilisés dans les pratiques de médecine vétérinaire et humaine. Les antibiotiques testés sont : la Pénicilline G (PG-10 UI), l'Amoxicilline +l'acide clavulanique (AMC- 20/10 µg), l'Oxacilline (OX- 1 µg), la Céfoxitine (Fox-30 µg), l'Erythromycine (E-15 µg), la Néomycine (N- 30 µg), la Gentamicine (Gm-10 µg), l'Enrofloxacin (ENR-5 µg), le Triméthoprime + sulfaméthoxazole (SXT- 1,25 / 23,75 µg), la Tétracycline (Te -30 µg), la Vancomycine (VA-30 µg), la Bacitracine (Ba-130 µg), la Clindamycine (Cm-2 µg) (CLSI 2008).

L'ensemencement de la gélose est réalisé par écouvillonnage (en imprimant successivement à la boîte de Pétri une triple rotation de 60 °C environ. Les disques sont déposés bien à plat à la surface de la gélose à une distance de 30 millimètres les uns des autres. Les disques ne doivent pas ensuite être déplacés car l'antibiotique diffuse rapidement après la pose des disques. Les géloses ensemencées sont incubées à 37 °C pendant 18 heures en position renversée (couvercle en bas).

Le contrôle de qualité a été réalisé avant chaque antibiogramme sur des souches de référence : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ; *Escherichia coli* ATCC 25922 (Annexe C).

### II.8.1.5 Lecture

L'antibiogramme consiste à classer les bactéries dans l'une des trois catégories cliniques, sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R), vis-à-vis d'une série d'antibiotiques (Jehl, 2015 ; Quentin-Noury, 2016) (Annexe B).

- Le résultat « R » (résistant) signifie que le risque d'échec thérapeutique est grand quel que soit le traitement ;
- Le résultat « S » (sensible) signifie qu'il n'y a pas de mécanisme de résistance acquise exprimé *in vitro*. La probabilité de succès thérapeutique est forte ;
- Le résultat « I » (intermédiaire) correspond à une zone d'incertitude qui ne peut pas prédire du succès ou de l'échec thérapeutique.

La procédure consiste à la :

- 1) Détermination du seuil de sensibilité de la bactérie vis-à-vis des antibiotiques étudiés ;
- 2) Comparaison de ce seuil aux valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques, et catégorisation S, I ou R ;
- 3) Lecture interprétative, c'est-à-dire validation biologique et thérapeutique.

## **II.8.2 La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par le VITEK 2**

Le Vitek 2 Compact (BioMérieux), est une version moderne de l'Automicrobic, disponible depuis 2005. C'est un système entièrement automatisé, qui gère l'incubation, la décision de lecture et la lecture elle-même. C'est un automate conçu dans les années 1970 pour être utilisé dans les navettes spatiales américaines. Le Vitek a été introduit en Microbiologie clinique dans les années 1980 (Winstanley *et al.*, 2011 ; Karlowsky, 2015 ; Quentin-Noury, 2016).

### **II.8.2.1 Principe**

Le Vitek 2 est basé sur le principe de :

- La détermination de la sensibilité aux antibiotiques par dilution en bouillon basés sur des concentrations d'épreuve ;
- Le calcul des CMI à partir d'un algorithme appliqué à la vitesse de croissance en l'absence d'antibiotique (témoin) et en présence d'une concentration test de chaque antibiotique ;
- L'utilisation des milieux de culture permettant une croissance plus rapide et un inoculum plus dense que dans les conditions standards ;
- Le système expert avancée (AES) du Vitek 2 contient une banque de données avec une compilation de dizaines de milliers de CMI de multiples antibiotiques pour des espèces variées présentant des mécanismes de résistance divers, issues de différentes sources.

### II.8.2.2 But

Fournir des résultats comparables à ceux obtenus avec les méthodes de référence en :

- Réduisant le temps de travail, et des résultats rapides de  $8,4 \pm 2$  h ;
- Améliorant la fiabilité des résultats grâce à la standardisation des réactifs et de la procédure et à l'informatisation qui évite les erreurs de catégorisation et de transcription ;
- Proposant un ou plusieurs phénotypes, impliquant des tests complémentaires pour lever toute ambiguïté, ce qui est consommateur du temps de travail et de réactifs et retarde les résultats ;
- Diminuant l'intervention humaine dans la réalisation, la lecture et l'interprétation de l'antibiogramme, en augmentant la sécurité pour le personnel en diminuant les contacts avec les échantillons ;
- Produisant des données quantitatives (CMI).

### II.8.2.3 Méthodes

Le système VITEK 2 (BioMérieux) est un système modulaire intégré qui se compose d'une unité de remplissage-scelllement, un lecteur-incubateur, un module de commande par ordinateur, un terminal de données et une imprimante multi copie. L'appareil est équipé d'une « Smart Carrier Station » qui comprend une unité de base avec microprocesseur contenant une cassette d'une capacité de 15 cartes et un lecteur de codes-barres. Le mécanisme peut accueillir entre 30 à 60 cartes.

L'AST-P631 est une carte colorimétriques, petite et mince en plastique de 64 puits contenant des antibiotiques sous forme déshydratée, un nombre de concentrations d'antibiotiques (1 à 6 concentrations d'épreuve de 9 à 20 antibiotiques), est utilisé pour couvrir les concentrations d'intérêt thérapeutique : la Benzylpenicilline, la Clindamycine, l'Erythromycine, la Gentamicine, la Néomycine, l'Oxacilline, screening test de Céfoxitine, la Tétracycline, l'Enrofloxacin, le Triméthoprime-sulfaméthoxazole et la Vancomycine.

L'inoculum est préparé manuellement. Les suspensions ont été préparées en émulsionnant de 3 à 5 colonies bactériennes dans 3 ml d'une solution de chlorure de sodium à 0,45% dans un tube en polystyrène ; la turbidité a été ajustée à l'équivalent de 0,5 McFarland selon les recommandations du fabricant. Aucun réactif n'est à ajouter. Les cartes ont été automatiquement remplies, scellées, et chargées pour l'incubation et la lecture. Les cartes sont placées dans la cassette ; des puces électroniques permettent le transfert de l'information numérisée à l'incubateur-lecteur. Après que la cassette ait été placée dans le poste de

---

chargement du Vitek 2, elle est automatiquement déplacée au travers des postes de lecture des codes-barres, de dilution de l'inoculum, d'inoculation puis de fermeture de la carte. Le système de transport place alors les cartes sur un carrousel pour l'incubation.

Chaque carte est déplacée vers le poste de lecture toutes les 15 minutes pour une mesure de la transmission de la lumière par un photomètre automatique, qui prend des lectures turbidimétriques proportionnelles à la croissance. Le système détecte la croissance des bactéries dans les micros puits dans le délai prévu en utilisant une technologie à base de fluorescence (Winstanley et *al.*, 2011 ; Quentin-Noury, 2016).

#### **II.8.2.4 Lecture**

À la fin du cycle d'incubation, une analyse par régression linéaire détermine les valeurs des CMI à l'aide d'un algorithme pour chaque antibiotique présent dans la carte, et les résultats sont interprétés en conformité avec les lignes directrices de l'Institut de Standards Cliniques et des Laboratoires (CLSI, 2008).

#### **II.8.2.5 Identification génotypique**

Durant la dernière décennie, de nombreuses techniques moléculaires ont été mises au point et utilisées pour l'identification et la comparaison des isolats de *S. aureus* dans des études épidémiologiques (Momtaz et *al.*, 2011).

Les méthodes moléculaires telles que la PCR (la réaction en chaîne par polymérase), en utilisant des cibles d'ADN différentes, ont été utilisées avec succès pour l'identification des staphylocoques. L'utilisation des gènes fonctionnels universels, dont les séquences nucléotidiques sont plus conservées dans les bactéries comme des cibles d'ADN pour l'amplification par PCR, est de plus en plus fréquente (Ezzeldeen et *al.*, 2011). Le développement de ces méthodes basées sur la PCR pour la détection de ces gènes a permis l'identification rapide de la virulence de *S.aureus* (Tyagi et *al.*, 2013).

Le but de cette partie était de caractériser les facteurs de virulences génotypiquement, Par la détection de la présence du gène *coa* et du gène *nuc* chez les souches de *S. aureus* isolées à partir des cas de mammites subcliniques par amplification par PCR. (Gharib et *al.*, 2013 ; Momtaz et *al.*, 2011 ; Abbas et *al.*, 2014).

#### **II.8.3 Le typage du gène de coagulase**

L'amplification du gène de coagulase (*coa*) a été considérée comme une méthode simple, précise suffisamment reproductible, spécifique, facile à interpréter et, une méthode discriminatoire pour le typage de *S. aureus* isolé à partir de sources animales. Cette technique est rapportée et pouvant être utilisée dans des enquêtes épidémiologiques sur isolats de *S. aureus* de la mammite bovine. (Moon et *al.*, 2007 ; Gharib et *al.*, 2013 ; Momtaz et *al.*, 2011).

La production de coagulase est l'une des caractéristiques déterminantes, utilisée dans le monde pour l'identification de *S. aureus* et est considérée comme un important facteur de virulence (Montaz et al., 2011 ; Abbas et al., 2014).

Le gène *coa* possède une région de répétition polymorphique répétée et conservée ; il peut être utilisé pour différencier les isolats de *S. aureus*. (Coelho et al., 2011 ; Montaz et al., 2011 ; Gharib et al., 2013).

Le polymorphisme du gène *coa* se trouve adéquat pour l'enquête épidémiologique de mammite bovine à *S. aureus* (Sahu et al., 2014).

La région 3' de *coa* se compose de courtes séquences d'acides aminés répétées de 81 paires de bases, qui sont en nombre et séquence variables de quatre à huit et une séquence fixe de 330 pb (Coelho et al., 2011 ; Montaz et al., 2011 ; Gharib et al., 2013).

Dans ce procédé, la PCR est utilisée pour amplifier la région 3' (Moon et al., 2007).

L'amplification par PCR du gène *coa* des isolats de *S. aureus* a été effectuée selon la méthode décrite par Hookey et al., (1999).

#### **II.8.4 La nucléase thermostable (Thermonucléase = TNase)**

Le gène *nuc* chez *S. aureus* code pour l'enzyme de thermonucléase ; l'amplification de ce gène est un potentiel de diagnostic rapide et d'identification de *S. aureus*, et elle est considérée comme une méthode d'étalon-or. Ce gène *nuc* est considéré comme un important facteur de virulence et un marqueur unique, largement utilisé dans la détection de *Staphylococcus aureus* à partir d'échantillons d'aliments et les échantillons cliniques (Ali et al., 2014).

La TNase est une endo et exonucléase stable à la chaleur, capable d'hydrolyser l'ADN et l'ARN dans des cellules hôtes (Sandel et al., 2004 ; Hu et al., 2013).

La TNase est une protéine ayant une masse moléculaire de 17 000 Da, et l'activité enzymatique peut résister à 100°C pendant au moins 1 heure (Brakstad et al., 1992).

L'amplification par PCR du gène *nuc* des isolats de *S. aureus* a été effectuée selon la méthode décrite par Gao et al., (2011).

#### **II.8.5 Les amorces du PCR**

Les techniques moléculaires basées sur la PCR ont été développées en utilisant des amorces spécifiques dirigées contre une variété de séquences (des gènes) dans le génome de *S. aureus* (Brakstad et al., 1992).

Les souches de *S. aureus* produisent une nucléase thermostable extracellulaire avec une fréquence similaire à celle au cours de laquelle elles produisent de la coagulase (Brakstad et al., 1992).

---

## II.8.6 La détection moléculaire des gènes de virulence

### II.8.6.1 Préparation de l'ADN matrice

L'ADN servant la matrice de l'amplification est préparé à l'aide du kit « Geno Plus™ Genomic DNA Extraction Miniprep System » (Viogene, cat N° : GG2001) selon le protocole du fabricant.

### II.8.6.2 Protocole

Les cultures de 18 h de *S. aureus* dans un bouillon BHI (3 ml) a été récolté par centrifugation à 7500 tours par minute (5000 x g) pendant 10 minutes, et le culot est remis en suspension dans 160 µl du tampon TE, puis ajouter 40 µl de la solution de lysozyme (100mg / ml) et bien mélanger et incubée à 37 °C pendant 30 minutes.

Le Protéinase K (20 µl) et le tampon FX (150 µl) ont été ajoutés au mélange, introduits immédiatement au vortex pendant 20 secondes puis incubés à 60 °C pendant 40 minutes pour lyser les cellules bactériennes. L'utilisation du Vortex toutes les 5 minutes pendant l'incubation facilite la lyse.

Pour obtenir l'ADN génomique exempt d'ARN, 10 µl de 50 mg / ml de RNase a été ajouté au mélange après l'incubation à 60 °C, et incubé pendant 10 minutes ou plus à température ambiante. Pendant ce temps, le préchauffage de 10 mM de Tris-HCl (pH 9,0), ddH<sub>2</sub>O ou du tampon TE à 70 °C (500 ul / préparation) pour l'éluion de l'ADN.

Le tampon FX (150 µl) puis l'éthanol (98-100%) (200 µl) ont été ajoutés au mélange et introduit au vortex.

Tout le mélange (y compris le précipité) a été pipeté dans une colonne placée dans un tube de collecte, sans toucher la jante, centrifugé à 8000 tours par minute (6000 x g) pendant 2 minutes, puis placé dans un nouveau tube collecteur, enfin laver deux fois avec 0,5 ml du tampon WS par centrifugation à 8000 tours par minute (6000 x g) pendant 2 minutes ; ainsi l'écoulement est éliminé. La colonne a été centrifugée à pleine vitesse (10 000 x g) pendant 2 minutes pour éliminer les résidus d'éthanol puis, placée dans un nouveau tube de 1,5 ml.

L'ADN est de nouveau élué avec 200 ul de la solution d'éluion préchauffée précédemment, et gardé dans une colonne pendant 1-5 minutes et, centrifugé pendant 1-2 minutes.

L'ADN élué a été conservé à -20 °C.

### II.8.6.3 Les amorces de PCR

Une paire d'amorce a été choisie pour amplifier chaque gène de virulence (le gène *coa* et le gène *nuc*) de *S.aureus*. Les séquences sont répertoriées dans le (Tableau 17).



Les amorces utilisées pour les 2 gènes ont été synthétisées et fournies par Sigma Aldrich Chemical Pvt M / s. Ltd (États-Unis).

**Tableau 17. Les séquences des amorces utilisées**

Nom de l'amorce	Séquence	Référence
CoaF	5'-ATAGAGATGCTGGTACAGG-3'	(Hookey et <i>al.</i> , 1999)
coaR	5'-GCTTCCGATTGTTCGATGC-3'	
nucF	5'-ATATGTATGGCAATCGTTTCAAT-3'	(Gao et <i>al.</i> , 2011)
nucR	5'-GTAAATGCACTTGCTTCAGGAC-3'	

### II.8.7 Le mélange réactionnel de la PCR

Le mélange réactionnel de la PCR est effectué dans un volume total de 25µl en mettant dans chaque tube PCR stérile les composantes du Tableau 18.

**Tableau 18. Préparation du mix en volume pour l'amplification**

Produit	Volume pour un tube ( µl )
Eau bidistillée stérile	18 µl
Tampon PCR 10 fois concentrée	2,5µl
dNTP (200mM, JenaBioscience)	0,25µl
Oligo sens (25pM)	1 µl
Oligo anti-sens (25pM)	1 µl
Taq polymérase (5U/µl, JenaBioscience cat N° : PCR-201S)	0,25µl
ADN matrice (50µg/ml)	2µl
Volume total	25µl

### II.8.8 Le principe de la PCR

Selon (Garnier et *al.*, 2011) la PCR repose principalement sur trois éléments :

- Le chauffage d'un ADN double brin jusqu'à au moins 90 °C permettant de le séparer en deux simples brins (étape de dénaturation) ;
- Après le chauffage et une séparation de l'ADN double brin en simples brins, un refroidissement progressif permettant une hybridation entre des séquences complémentaires (étape d'hybridation des amorces) ;
- La propriété de recopiage d'un brin cible à partir d'une amorce complémentaire hybridée sur le brin grâce à des ADN polymérases, enzymes thermostables (étape d'élongation).

### II.8.9 La PCR

Les tubes sont introduits dans le thermocycleur (MultiGene Gradient Thermal Cycler, Labnet) (Figure 12) et soumis au programme d'incubation représenté dans le schéma suivant :

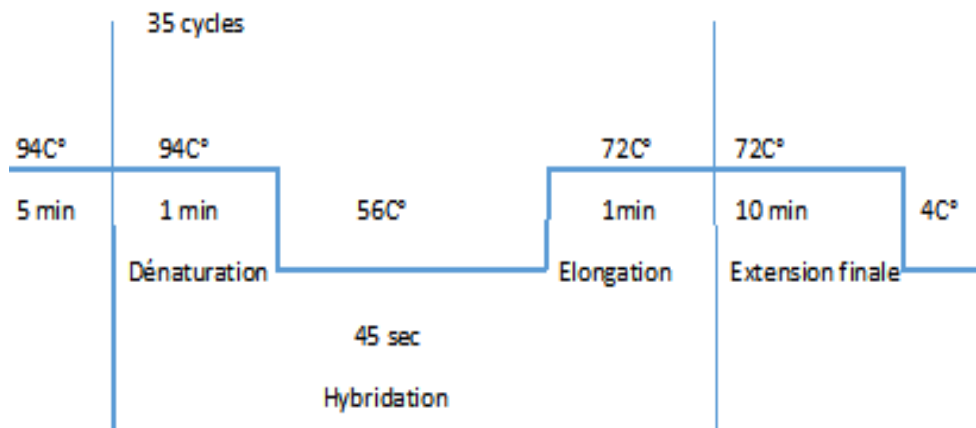


Figure 12. Le schéma représentatif du programme de la PCR utilisé



Figure 13. Le thermocycleur MultiGene Gradient Thermal Cycler, Labnet

### II.8.10 Détection des produits PCR par électrophorèse sur gel d'agarose

Le principe de l'électrophorèse en gel d'agarose repose sur le fait que les acides nucléiques chargés négativement peuvent migrer dans un champ électrique, et permet la séparation des fragments d'ADN de différentes tailles (200-15'000 pb) à l'aide un champ électrique constant.

Le système de séparation utilisé est l'effet de filtration sur gel. La vitesse de migration d'une molécule d'acide nucléique sera fonction de deux paramètres : sa masse moléculaire (nombre de bases ou de paires de bases) et la concentration du gel.

Le gel d'agarose est un réseau complexe de polymère, composé d'agarose et d'un tampon aqueux. La taille des pores est déterminée par la composition de ce dernier et de par la concentration et le type d'agarose utilisé. Plus les pores du gel sont grands, plus la taille des molécules que le gel peut séparer est grande. L'ADN migre vers l'électrode chargée positivement dans la cuve d'électrophorèse.

La révélation est possible grâce au bromure d'éthidium (BET), agent intercalant de l'ADN. Lorsqu'on excite le BET par des ultraviolets (UV), celui-ci présente une fluorescence et l'ADN est visualisé sous forme de bandes (Garnier *et al.*, 2011).

### II.8.11 Préparation du gel à 5%

Préparation du gel d'Agarose par la méthode standard : 1g d'Agarose dans 100ml de tampon TBE 1x (89 mM TRIS, 89 mM Acide borique et 2 mM EDTA, pH: 8). La révélation de l'ADN par BET.

### II.8.12 La composition de la solution de dépôt sur gel d'agarose

- Bleu de bromophénol 0,02% ;
- Xylène cyanol 0,02% ;
- 3% glycérol.

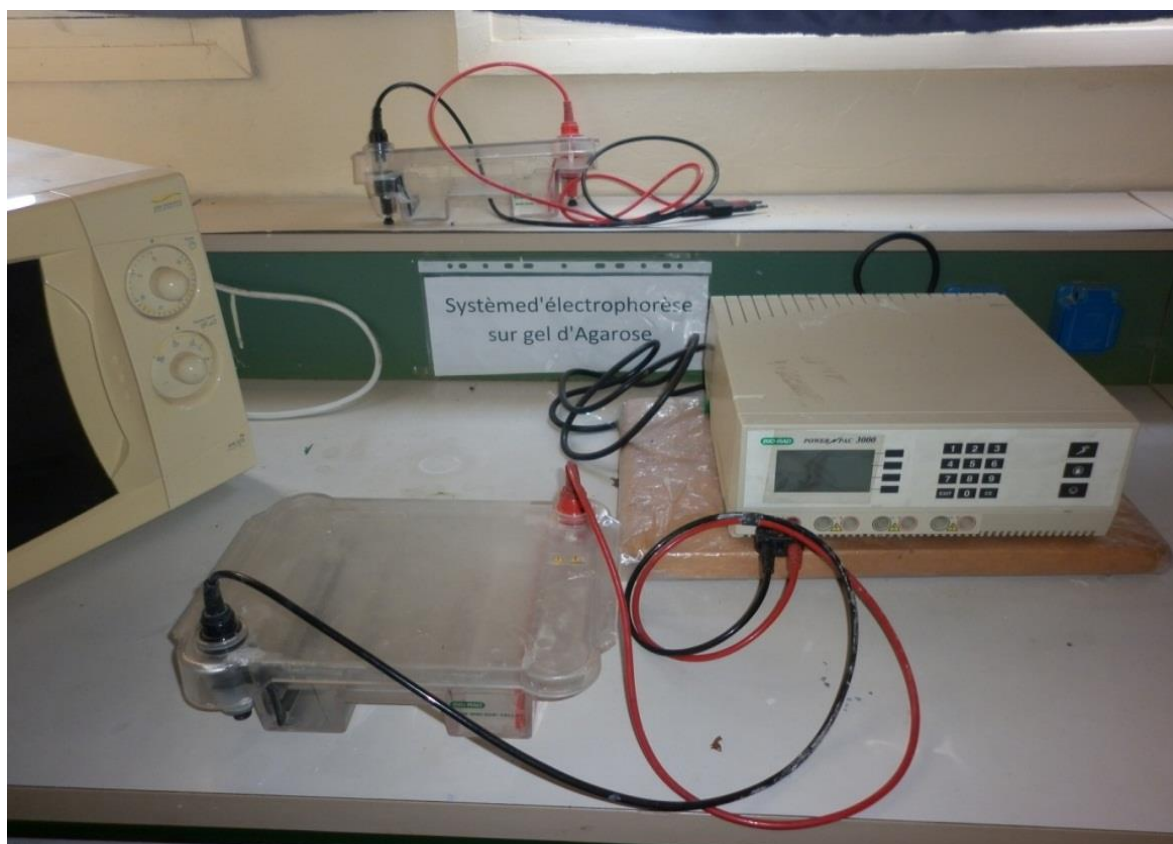


Figure 14. Système d'électrophorèse sur gel d'agarose

### II.8.12.1 Lecture

3 $\mu$ l des produits de PCR ont été analysés par électrophorèse sur un gel d'agarose 1%. L'estimation de la taille des fragments est faite grâce à la comparaison avec l'échelle de marqueur de taille moléculaire type 100pb DNA ladder, Bio Basic Inc, utilisé simultanément dans une autre piste lors de la migration.

Les bandes sont visualisées sous lumière ultraviolette et photographiées par le Gel Doc « Syngene » (Figure 15).

Le produit d'amplification du gène *coa* est variable (875pb, 660pb, 603pb et 547pb).

La taille moléculaire du produit de PCR du gène *nuc* est de 395pb.



Figure 15. Le Gel Doc « Syngene »

## **II.9 L'analyse statistique**

Les données sont analysées avec le logiciel IBM, SPSS 23, la relation entre la mammite subclinique et les différents facteurs est réalisée par le test  $\chi^2$  corrigé de Yates ou test exact de Fisher, les valeurs p sont considérés comme significatives si  $p < 0,05$ , hautement significative si  $p < 0,01$  ou fortement significative si  $p < 0,001$ . La régression logistique est réalisée afin de déterminer les facteurs favorisants et leur intensité en relation avec la survenue de la mammite subclinique.

---

---

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

---

---

La présente étude a été réalisée pour étudier la prévalence de mammites subcliniques staphylococciques isolées à partir du lait cru des vaches en lactation dans l'ouest Algérien, en utilisant le test CMT et d'identifier les facteurs de risque associés.

Dans notre étude, les agriculteurs ne sont pas du tout familiers avec le concept de la mammite par le manque de signes visibles. Les vaches n'ont donc jamais été criblées par un test de dépistage ni par des échantillons pour une culture bactériologique afin de détecter la mammite subclinique. Une assistance vétérinaire a été demandée seulement dans le cas d'une grave mammite clinique. Par conséquent, informer les agriculteurs et les sensibiliser autour de la mammite subclinique dans notre région restent des objectifs majeurs.

Le test CMT est un outil d'assurance de la sécurité du lait cru destiné à la consommation humaine. C'est un test de dépistage fiable pour l'enquête épidémiologique de la mammite subclinique dans les troupeaux laitiers (Elbably et *al.*, 2013).

L'étude épidémiologique appliquée dans cette enquête a été appliquée par la combinaison du test CMT avec les cultures bactériologiques, parce que la mammite subclinique a été définie lorsque les glandes mammaires sont sans anomalies cliniques et donnent du lait apparemment normal, mais étaient bactériologiquement positives et avec un test CMT positif (Stefanakis et *al.*, 1995). Cependant, l'examen logistique et financier de l'échantillonnage de toutes les vaches pour la culture bactériologique reste loin d'être adopté, vu son coût élevé.

### **III.1 Le diagnostic sanitaire mammaire par le test CMT**

Un millier de quartiers, de 250 vaches en lactation examinés, cliniquement sains, avec mamelle d'aspect normal, dépistés pour la présence de la mammite subclinique en utilisant le test CMT. Sur le total des quartiers examinés, 19 (1,9%) quartiers étaient inactifs laissant 981 quartiers fonctionnels.

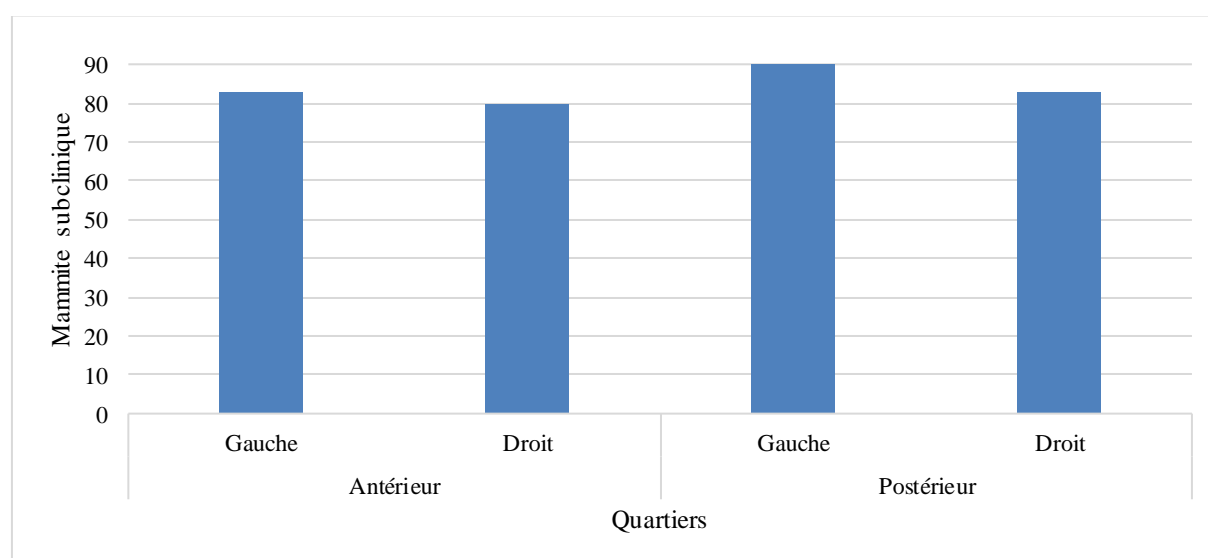
L'utilisation du test CMT présente de nombreux avantages. Il a l'avantage de faire économiser le temps et l'argent en permettant de cibler les quartiers infectés.

Dans la présente étude la prévalence des quartiers avec une mammite subclinique selon le test CMT est de 33,6% comme indiqué dans le tableau 1, ce qui est supérieur aux résultats trouvés dans d'autres études menées en Algérie. Dans la région de l'est Algérien (Mamache et *al.*, 2014) ont trouvé 29.44%, aussi dans une autre étude dans le centre d'Algérie (Saidi et *al.*, 2013) ont rapporté 29.2%. En Inde (Mir et *al.*, 2014) ont signalé 30.73 % et en Égypte (Elbably et *al.*, 2011) 23.47%.

**Tableau 19 . La prévalence et la distribution de la mammite au niveau des vaches et des quartiers examinés**

	Examinés	CMT négatif	CMT positif	Fréquence (%)
<b>Quartiers</b>	1000	664	336	33,60%
<b>AD</b>	250	170	80	32,00%
<b>AG</b>	250	167	83	33,20%
<b>PD</b>	250	167	83	33,20%
<b>PG</b>	250	160	90	36,00%
<b>Vaches</b>	250	116	134	53,60%

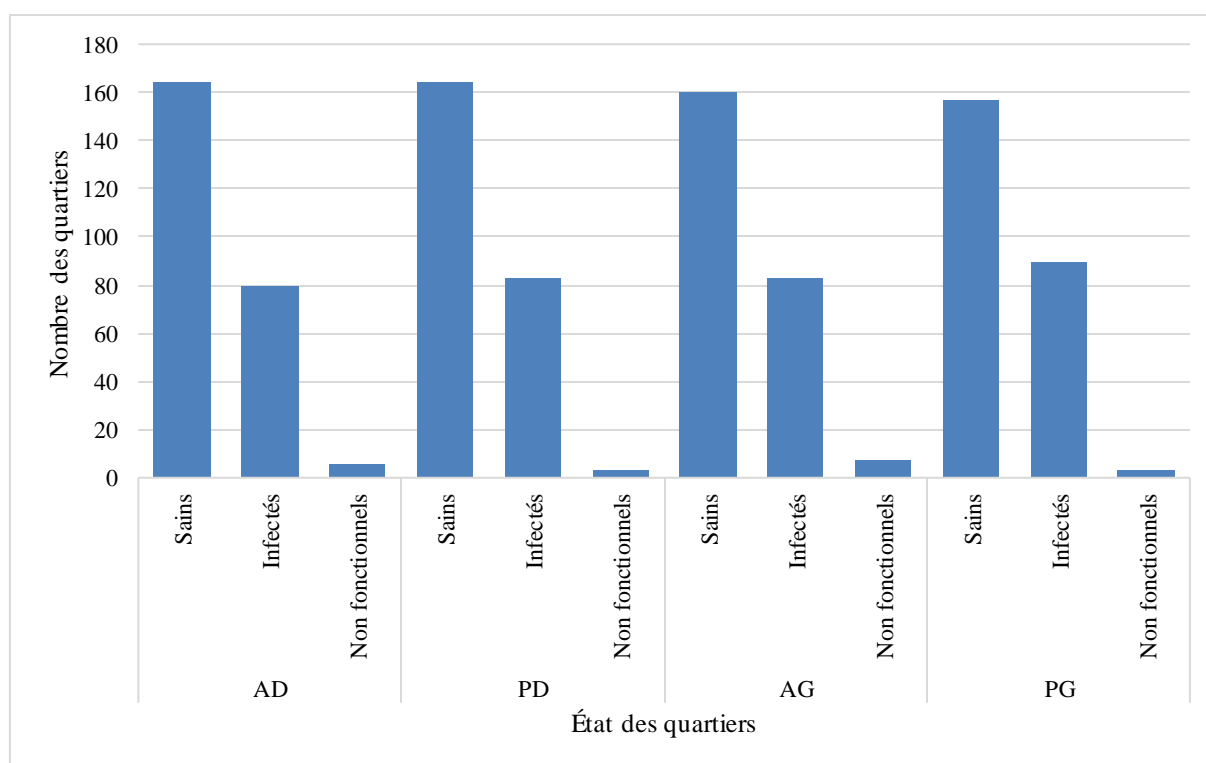
La prévalence de la mammite sur la base des quartiers est de 336 (33.6%) avec un taux d'infection plus élevé dans les quartiers arrière 173 (34.6%) par rapport aux quartiers avant 163 (32.6%) (Figure 16).

**Figure 16. La distribution de la mammite subclinique selon les quartiers**

Porcher (1932), a montré que les quartiers postérieurs sont plus souvent infectés que les quartiers antérieurs, par le fait que les quartiers postérieurs stagnent plus que les quartiers antérieurs dans les excréments et qu'au repos, ils se trouvent comprimés davantage que les quartiers antérieurs entre les cuisses. En effet, l'importance des infections mammaires est probablement causée par la contamination des quartiers arrières par des fèces ou de la litière souillée.

D'après la Figure 17, il apparaît qu'il n'y a pas de différence significative entre les infections des quartiers droits (AD et PD) et celles des quartiers gauches (AG et PG). Les quartiers PG ont une fréquence d'infection plus élevée que les quartiers PD avec un pourcentage de 90 (36%) contre 83 (33.2%).





**Figure 17. La distribution des quartiers selon leurs états sanitaires**

Porcher (1932) affirme que la plupart des bovins choisissent plutôt le côté gauche que le côté droit pour se reposer, en raison de la disposition de la panse à gauche. L'animal évite de se coucher sur le côté droit, afin de ne pas comprimer le reste des organes digestifs avec la panse, dont la masse est considérable.

Les résultats de la relation entre la mammite subclinique et le test CMT avec les scores sont présentés dans le tableau.

**Tableau 20. La distribution des quartiers selon le score du test CMT**

Scores	CMT positif	Fréquence (%)
0	156	15,6
1	508	50,8
2	177	17,7
3	134	13,4
4	25	2,5
Total	1000	100,00

Sur les échantillons de lait de quartiers examinés par le test CMT, 50,8, 17,7, 13,4 et 2,5 ayant les scores : 1, 2, 3 et 4 respectivement, tandis que 15,6% des échantillons sont avec le score 0.

Nos résultats sont en accord avec les résultats de Mamache *et al.*, (2014) qui ont trouvé 17,76% pour le score 2 et sont inférieurs par rapport à Attia *et al.*, (2003) avec 30 et 75% pour

le score 4 et 3 respectivement. Tandis que largement supérieur à Dar et *al.*, (2014), qui ont trouvé 9.12% pour le score 1.

## III.2 L'isolement et l'identification des isolats

### III.2.1 Identification phénotypique

Trois cent trente-six échantillons de lait positifs avec un score de CMT $\geq$ 2 ont été examinés pour la bactériologie. L'examen bactériologique a révélé un pourcentage d'échantillons positifs de 14,2% (Tableau 21).

Dans l'ensemble, il y avait une association significative forte entre l'examen bactériologique et le test CMT dans le lait obtenu par le Test  $\chi^2$  (P <0,001). La mammite subclinique et l'examen bactériologique sont liés même si les quartiers seront changés.

Selon l'examen bactériologique, parmi les 336 échantillons positifs au test CMT 142 échantillons sont des cultures bactériologiques positives et les Staphylocoques représentent (56,34%), ce qui confirme que les Staphylocoques sont l'agent pathogène principal de la mammite bovine dans les différents pays (Wang et *al.*, 2015). La mammite staphylococcique rapportée comme la plus répandue par de nombreuses études ; 41.04% en Inde par (Mir et *al.*, 2014), et 63.6% en Egypte par (Elbably et *al.*, 2013).

**Tableau 21. La prévalence de la mammite et la bactériologie par rapport aux quartiers**

Quartiers	Nombre de quartiers examinés	Mammite subclinique (MS)		Résultats bactériologiques (RB)		Trayons inactive		MS vs RB		
		Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	$\chi^2$	ddl	p
AD	250	80	32,0%	35	14,0%	6	2,4%	126,015	1	<0,001
PD	250	83	33,2%	32	12,8%	3	1,2%			
AG	250	83	33,2%	33	13,2%	7	2,8%			
PG	250	90	36,0%	42	16,8%	3	1,2%			
Total	1000	336	33,6%	142	14,2%	19	1,9%			

#### III.2.1.1 Identification biochimique

Les isolats bactériens ont été identifiés biochimiquement en utilisant le système d'API 20 STAPH et les espèces de *Staphylococcus* ont été résumées dans le Tableau 22.

Une forte différence est marquée entre la répartition des espèces (p <0,001) (Tableau 23), dans cette étude, les prévalences de différentes bactéries isolées sont :

*S. aureus* (26,25%), *S. xylosus* (13,75%), *S. Scuri* (3,75%), *S. simulans* (1,25%), (7,5%) pour *S. hominis*, *S. caprae*, *S. intermedius* et *S. epidermis*, (6,25%) pour *S. chromogenes* et *S. hemolyticus*, (2,5%) pour *S. auricularis*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. lentu* et *S. hyicus*.

L'identification biochimique a montré que 73,75% des isolats sont des Staphylocoques à coagulase négatifs et que 26,25 % sont des *S. aureus*. Ce résultat est en accord avec (Mekonnen et al., 2010) en Ethiopie et (Katsande et al., 2013) au Zimbabwe où les Staphylocoques à coagulase négatives, et *S. aureus* ont été signalés comme les organismes les plus fréquemment isolés par ordre d'importance décroissant. Cela souligne l'importance des Staphylocoques à coagulase négatives dans la mammite subclinique et que certains d'entre eux sont plus pathogènes que ce qui sont précédemment admis.

**Tableau 22. La fréquence de distribution des espèces de Staphylocoques isolés des quartiers avec une mammite subclinique (CMT positives).**

Espèces	Frequences	Pourcentages (%)	$\chi^2$	ddl	p
<i>S.aureus</i>	21	26,25			
<i>S.xylosus</i>	11	13,75			
<i>S.hominis</i>	6	7,50			
<i>S.caprae</i>	6	7,50			
<i>S.intermedius</i>	6	7,50			
<i>S.auricularis</i>	2	2,50			
<i>S.chromogenes</i>	5	6,25			
<i>S.scuri</i>	3	3,75	67,375	14	<0,001
<i>S.simulans</i>	1	1,25			
<i>S.epidermis</i>	6	7,50			
<i>S.warneri</i>	2	2,50			
<i>S.capitis</i>	2	2,50			
<i>S.hemolyticus</i>	5	6,25			
<i>S.lentus</i>	2	2,50			
<i>S.hyicus</i>	2	2,50			
Total	80	100,00			

Dans la présente étude, *S. aureus* a été isolé à partir de 26,25 % des cas d'échantillons de lait de mammite. Les résultats similaires de récupération de *S. aureus*, à partir d'échantillons de lait de mammite, ont été observés par divers auteurs. Arslan et al., (2009) ont retrouvé 25,66% de *S. aureus*. Ranjan et al., (2011) et Chougule et al., (2014) ont rapporté respectivement 27,37% et 27,78% de *S. aureus*.

Plusieurs espèces de Staphylocoques à coagulase négatives sont isolées dans cette étude ; les données suggèrent que la répartition des principales espèces de Staphylocoques à coagulase

négatives dans le lait de mammites était différente entre les fermes laitières ou les troupeaux (Xu et al., 2015). Les espèces de Staphylocoques à coagulase négatives isolées dans la présente étude sont en accord avec les résultats isolés par Thorberg et al., (2009) et Gillespie et al., (2009).

Selon divers auteurs (Boerlin et al., 2003 ; Taponen et al., 2007 ; Zadoks et al., 2009) *S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. xylosum*, *S. hyicus* et *S. warneri* sont les espèces les plus fréquemment isolées dans le lait de bovins.

Dans cette étude, les isolats de Staphylocoques à coagulase négatives sont de 73,75% supérieurs à 29,12% à ceux trouvés par (Mamache et al., 2014) dans l'est de l'Algérie et inférieurs à ceux de (Hosseinzadeh et al., 2014) en Iran avec 95.6%.

Selon Bhutto et al., (2012) le test CMT à un score  $\geq 2$  ou plus, a été associé à un risque accru d'infection par *S. aureus* (Tableau 23). Dans notre étude, les résultats montrent une bonne sensibilité du test CMT pour l'identification bactériologique des mammites subcliniques chez la vache ; des résultats similaires ont été trouvés par (Rasmussen et al., 2005).

**Tableau 23. Relation entre les bactéries isolées et le score du test CMT**

Les espèces de Staphylocoques

Score CMT	<i>S. aureus</i>	<i>S. xylosum</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. caprae</i>	<i>S. intermedium</i>	<i>S. auricularis</i>	<i>S. chromogenes</i>	<i>S. sciuri</i>	<i>S. simulans</i>	<i>S. epidermis</i>	<i>S. warneri</i>	<i>S. capitis</i>	<i>S. hemolyticus</i>	<i>S. lentus</i>	<i>S. hyicus</i>
2	4	5	2	5	3	0	3	0	0	3	2	0	5	1	2
3	14	6	1	1	3	1	2	3	1	3	0	2	0	1	0
4	3	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Nos résultats suggèrent que, globalement, il y avait une association significative entre la fréquence d'isolement des *S. aureus* et des Staphylocoques à coagulase négatives et le score CMT dans des échantillons de lait, et indiquent également que les quartiers infectés par un agent pathogène majeur étaient plus susceptibles d'avoir des scores du test CMT plus élevés que ceux qui sont infectés par des agents pathogènes mineurs ce qui est d'accord avec les résultats de (Bhutto et al., 2012).

---

### III.2.1.2 La détermination de certains facteurs de virulence

### III.2.1.3 La combinaison entre la production de la coagulase libre et liée pour l'identification des isolats

Après l'identification biochimique, le test de Staphytect plus et le test de coagulase en tube ont été réalisés (Tableau 24).

De nouvelles méthodes pour l'identification de nombreux agents pathogènes de la mammite ont été développées. *S.aureus* a été identifié traditionnellement par le test de la coagulase, mais la détection des protéines de surface telles que le clumping-factor et / ou la protéine A, permet également l'identification rapide des espèces (Zschöck et *al.*, 2005).

L'une des caractéristiques qui distinguent les souches de Staphylocoques pathogènes des moins pathogènes est la capacité à produire de la coagulase libre et de la coagulase liée (Clumping factor) (Malinowski et *al.*, 2011).

Plusieurs facteurs de virulence sont produits par *S. aureus*, y compris les protéines de coagulase ; ce qui est important dans la pathogénie la transformation du fibrinogène en fibrine, conduisant alors à la formation d'abcès et de la persistance de micro-organismes dans les tissus de l'hôte (Abdeen et *al.*, 2015).

Le test de la coagulase en tube (le coagulase libre) est toujours le « gold standard » dans le laboratoire de microbiologie clinique (Markey et *al.*, 2013).

D'après Cuny et *al.*, (1999), le Staphytect Plus à une excellente sensibilité pour l'identification de *S. aureus*.

Mais selon Personne et *al.*, (1997), la distinction entre *S. aureus* et les Staphylocoques à coagulase négatives uniquement sur la base du test d'agglutination conduit à un certain nombre d'erreurs qui pourraient être évitées par l'utilisation systématique d'un second test tel que le test de la coagulase en tube. Par conséquent, les laboratoires doivent utiliser les kits d'agglutination en confirmant tous les résultats obtenus avec un test coagulase en tube. Tout écart entre les deux tests doit être résolu en déterminant les caractéristiques biochimiques des isolats.

L'utilisation des anticorps anti capsulaires, améliorent la détection des isolats de *S. aureus* en particulier les souches déficientes en clumping factor et à la protéine A (Zschöck et *al.*, 2005).

Au lieu de l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre les polysaccharides capsulaires, Staphytect-Plus travaille avec des anticorps polyclonaux de lapin contre ces structures de surface de *S. aureus*. La portion Fc de l'IgG de lapin est capable de détecter simultanément la paroi cellulaire liée à la protéine A. En outre le fibrinogène porcin est ajouté pour la détection de l'activité du clumping factor (Zschöck et *al.*, 2005).

Une meilleure sensibilité pour les deux tests a été observée pour les souches de *S. aureus*. Sur 21 souches identifiées 19 (90,48 %) souches sont révélées positives.

Dans la présente étude, sur 21 isolats de *S. aureus*, 19 (90,48%) se sont révélés être des souches productrices de coagulase par la méthode du tube ; les mêmes résultats ont été rapporté par Pawar (2009) avec 95.12%.

Cependant, des pourcentages plus faibles de production de la coagulase libre ont été rapportés par plusieurs auteurs. Chougule et al., (2014) ont trouvé (30%) ; Hussain et al., (2012) 38.33% ; Boerlin et al., (2003) 50% ; et Mosaferi et al., (2012) 56.96%.

Des résultats non interprétables selon les instructions du fabricant pour le test de Staphylect plus en raison d'agglutination du contrôle négatif ou le phénomène auto-agglutination ont été observés parmi les isolats de (01) *S. hemolyticus*, (01) *S. aureus*, (02) *S. sciuri*, (01) *S. Hominis*, (01) *S. epidermis*.

Deux souches (9,52%) atypiques de *S. aureus* ont été défectueuses pour le test de Staphylect plus et le test de coagulase en tube.

Des Staphylocoques atypiques étaient la principale raison des infections intra mammaires à la ferme, ce qui provoque des problèmes de la production d'une qualité acceptable du lait (Malinowski et al., 2011).

Dans la recherche de Garbacz et al., (2002), plus de 12,3% et 4,2% des souches de *S. aureus* isolées de patients dans les hôpitaux en Pologne ont été coagulase et clumping factor négatifs, respectivement.

D'autres auteurs (Lee, 2003 ; Wiśniewska et al., 2008) ont également noté la présence de souches atypiques de *S. aureus* dans le lait des vaches et chez des patients dans les hôpitaux.

Les sensibilités plus faibles pourraient être expliquées principalement par l'absence de détection de souches atypiques de *S. aureus* défectueux du clumping factor, la protéine A ou de type capsule 5 ou 8. Ces souches ne sont pas rares dans la mammite bovine. Hummel et al., (1992) rapporte l'absence d'activité clumping factor dans les souches de *S. aureus* de la mammite de plus de 50% des souches étudiées sur le terrain.

Laevens et al., (1996) ont isolé un clumping factor négatif chez des souches atypiques de *S. aureus* comme une cause d'infection intra mammaire dans un troupeau laitier.

Parmi les espèces non *S. aureus*, des réactions faussement positives ont été observées pour le test de Staphylect plus principalement pour : *S. xylosum*, *S. hominis*, *S. caprae*, *S. intermedium*, *S. auricularis*, *S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. epidermis*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. hemolyticus*, *S. lentus*, *S. hyicus*. Résultant que la spécificité du test de Staphylect plus est réduite par rapport à ces réactions positives (Tableau 24).

**Tableau 24. Résultats des 2 tests Staphylect plus et Coagulase libre pour les espèces isolées**

Les espèces de Staphylocoques	Nombre (%) Des espèces	Test de Staphylect Plus (% des cas positif)	Test exact de Fisher	Test de Coagulase Libre (% des cas positif)	Test exact de Fisher
<i>S. aureus</i>	21(26,25%)	19(23,75%)		19(23,75%)	
<i>S. xylosus</i>	11(13,75%)	9(11,25%)		5(6,17%)	
<i>S. hominis</i>	6(7,5%)	3(03,75%)		1(1,23%)	
<i>S. caprae</i>	6(7,5%)	4(5%)		2(2,47%)	
<i>S. intermedius</i>	6(7,5%)	6(7,5%)		6(7,41%)	
<i>S. auricularis</i>	2(2,5%)	2(2,5%)		0(0%)	
<i>S. chromogenes</i>	5(6,25%)	4(5%)		4(4,95%)	
<i>S. scuri</i>	3(3,75%)	0(0%)	p=0,048	2(2,47%)	p< 0,001
<i>S. simulans</i>	1(1,25%)	1(1,25%)		0(0%)	
<i>S. epidermis</i>	6(7,5%)	4(5%)		1(1,23%)	
<i>S. warneri</i>	2(2,5%)	1(1,25%)		0(0%)	
<i>S. capitis</i>	2(2,5%)	1(1,25%)		0(0%)	
<i>S. hemolyticus</i>	5(6,25%)	3(03,75%)		0(0%)	
<i>S. lentus</i>	2(2,5%)	1(1,25%)		1(1,23%)	
<i>S. hyicus</i>	2(2,5%)	1(1,25%)		2(2,47%)	

Dans l'étude de (Zschöck et al., 2005), une souche de *S. haemolyticus* et deux souches de *S. epidermidis* de cette étude ont fait apparaître des réactions faussement positives. Ces réactions faussement positives pourraient être dues à d'autres antigènes sur ces isolats qui donnent une réaction croisée avec les anticorps particuliers utilisés dans ces essais.

Alors que la présence de l'activité du clumping factor est une caractéristique déterminante de *S. aureus*, des souches de Staphylocoques à coagulase négatives ont également été signalées à être positives dans cette réaction (Kloos et al., 1999).

Bien que moins sensibles et moins spécifiques, des résultats ont été observés pour le test de coagulase en tube pour les souches non *S. aureus* considérées normalement comme des coagulases négatives mais se sont avérées des coagulases positives : *S. xylosus*, *S. hominis*, *S. caprae*, *S. intermedius*, *S. chromogenes*, *S. sciuri*, *S. epidermis*, *S. lentus*, *S. hyicus*. (Tableau 24).

En médecine vétérinaire, les staphylocoques à coagulase positive autre que *S. aureus* ont souvent été mal identifiés comme étant des souches de *S. aureus*, car ils ont plusieurs caractéristiques phénotypiques en commun. (Sasaki et al., 2010).

Depuis 1976 tous les staphylocoques positifs pour le test de coagulase en tubes ont été identifiés comme *S. aureus*. Cette procédure d'identification simple peut conduire à l'identification erronée de certaines espèces à coagulase positive autres que *S. aureus* comme *S.*

---

*intermedius*, *S. hyicus* qui colonisent les animaux et peuvent devenir pathogènes pour l'homme. (Riegel et al., 2011). C'est le cas de la présente étude où nous avons trouvé des espèces autres que *S. aureus* qui produisent l'enzyme de coagulase.

Dans la présente étude, une liaison modérément significative ( $p=0,048$ ) et fortement significative ( $P<0,001$ ) respectivement, du test de Staphylect plus et le test de coagulase en tube, par rapport aux espèces de Staphylocoques isolés. Une forte proportion de souches de Staphylocoques à coagulase négatives ont exprimé des protéines de surfaces susceptibles de produire des réactions positives avec le test de Staphylect plus normalement conçu pour l'identification de *S. aureus* et de mettre en évidence les erreurs qui pourraient se produire avec de tels kits d'agglutination, ce qui correspond avec les résultats de Personne et al., (1997) et Cuny et al., (1999).

Les méthodes d'identification rapide pour *S. aureus* ont été rarement évaluées spécifiquement pour le diagnostic de la mammite chez les bovins. La validation de test séparé, pour l'identification des isolats de la mammite bovine avec ces kits d'identification rapide, est nécessaire à cause de la différence entre les populations de *S. aureus* de l'homme et des bovins (Kapur et al., 1995).

L'occurrence de la protéine A a été signalée, comprise entre 50 et 60% chez les souches isolées de la mammite bovine, contrairement aux souches humaines étant comprises entre 90 à 99% (Forsgren, 1970 ; Kronvall et al., 1972).

Seulement 69,4% des souches de mammite bovine portent l'antigène polysaccharide capsulaire de type 5 ou 8 (Poutrel et al., 1988) contrairement à 70-80% des isolats cliniques humains (Fournier et al., 1989).

La protéine A par exemple a été démontrée pour être présente chez plus de 2% du staphylocoques à coagulase négatives (Winblad et al., 1973 ; Maxim et al., 1976).

#### **III.2.1.4 La détermination de la production de la DNase**

La Dnase est un facteur de virulence de *S. aureus* (Sandel et al., 2004).

Elle est un critère important, utilisée pour identifier *S. aureus*, et est aussi importante que la coagulase dans la pathogénèse ; elle fait la distinction entre les staphylocoques pathogènes et la flore résidente non pathogène (Pfaller et al., 1988).

C'est une enzyme qui décompose l'ADN. Comme la coagulase, elle facilite la colonisation tissulaire, l'évasion immunitaire et la destruction des tissus (Chougule et al., 2014).

Dans l'étude de Devriese et al., (1975), il a été constaté qu'il y avait une forte association entre la Dnase et la coagulase chez *S. aureus*. Ces deux tests étaient à 96% positifs.



Selon Zastempowska et al., 2014, une forte activité de la Dnase est utile pour identifier potentiellement les Staphylocoques pathogènes, tels que *S. aureus*, tandis que la faible activité de la Dnase est rare dans cette espèce de bactéries.

Dans la présente étude, l'activité Dnase était positive chez 23.75% et 33.75% pour *S. aureus* et les Staphylocoques à coagulase négatives, respectivement (Tableau 25). Des résultats plus forts sont trouvés par Erganiş et al., (1995), Daghistani et al., (2000) et Türkyilmaz et al., (2006) avec 42,2% et 54,4% pour *S. aureus* et les Staphylocoques à coagulase négatives, respectivement.

**Tableau 25. Résultats du test Dnase**

	Le test Dnase		Test exact de Fisher
	Positif	Négatif	
<i>S. aureus</i>	19 (23.75%)	02 (2.5%)	p=0,001
<i>S. xylosus</i>	06 (7.5%)	05 (6.25%)	
<i>S. hominis</i>	04 (5%)	02 (2.5%)	
<i>S. caprae</i>	02 (2.5%)	04 (5%)	
<i>S. intermedius</i>	00	06 (7.5%)	
<i>S. auricularis</i>	00	02 (2.5%)	
<i>S. chromogenes</i>	03 (3.75%)	02 (2.5%)	
<i>S. scuri</i>	01 (1.25%)	02 (2.5%)	
<i>S. simulans</i>	01 (1.25%)	00	
<i>S. epidermis</i>	03 (3.75%)	03 (3.75%)	
<i>S. warneri</i>	01 (1.25%)	01 (1.25%)	
<i>S. capitis</i>	01 (1.25%)	01 (1.25%)	
<i>S. hemolyticus</i>	03 (3.75%)	02 (2.5%)	
<i>S. lentus</i>	00	02 (2.5%)	
<i>S. hyicus</i>	02 (2.5%)	00	
Total	46 (57.5%)	34 (42.5%)	

Sur le total de 21 isolats de *S. aureus*, 19 (90,48%) isolats ont été trouvés Dnase positif et 2(9,52%) Dnase négatif.

Le résultat ci-dessus de la production positive de la Dnase est supérieur à celle de Singh et al., (2011), Younis et al., (2000) et Chougule et al., (2014) avec 87,50%, 83,3% et 76,66% respectivement.

Des résultats aussi élevés avec 93,7%, 94,5%, 98,74% et 100% ont également été observés par Rahul et al., (2015) ; Gündoğan et al., (2006) ; Boerlin et al., (2003) et Narmeen et al., (2009), respectivement. Cependant, Marques et al., (2013) ont enregistré seulement 36,84% de *S. aureus* avec une activité positive de Dnase étant beaucoup plus faible que nos conclusions.

La corrélation étroite entre la capacité des souches de *S. aureus* pour produire à la fois la coagulase et la Dnase et leur pathogénicité pour les animaux, a encouragé la recherche sur la possibilité que les staphylocoques à coagulase négative peuvent également produire la Dnase.

Il a été rapporté que les Staphylocoques à coagulase négatives peuvent également avoir une activité de Dnase (Markey et al., 2013).

Il n'était, par conséquent, pas étonnant que dans plusieurs références les non *S. aureus* ont montré des propriétés phénotypiques identiques ou similaires à ceux de *S. aureus* (Graber et al., 2013).

L'activité Dnase est typique de *S. aureus*, mais est également observée dans un certain nombre de non *S. aureus* dont *S. hyicus*, *S. epidermis* et *S. intermedius* (Markey et al., 2013), et *S. chromogenes* (Schleifer et al., 2009). C'est le cas observé dans notre étude.

Selon nos résultats, l'activité de Dnase a été trouvée dans 45.76% des non *S. aureus* ; ce qui est largement supérieur aux résultats de Çitak et al., (2003) avec 10.2%. De même, la Dnase a permis de reconnaître correctement (90.48%) des souches de *S. aureus*, et il y avait un nombre considérable de non *S. aureus* qui génèrent également un résultat positif (45.76%). Ce résultat est largement supérieur pour les non *S. aureus* chez Graber et al., (2013) avec (17%).

L'activité Dnase a été trouvée en 3 (60%) de 5 *S. haemolyticus*, 4 (66,77%) de 6 *S. hominis*, et 6 (54,55%) de 11 *S. xylosus* ; elle diverge de celle de Çitak et al., (2003) avec 3 (42,9%) de 7 *S. haemolyticus*, 6 (20,7%) de 29 *S. hominis*, et 5 (17,9%) de 28 *S. xylosus*.

*S. intermedius*, *S. auricularis* et *S. lentus* n'ont aucune activité DNase (Tableau 25).

La présence d'une activité de Dnase est souvent utilisée comme un marqueur substitut pour l'identification des staphylocoques à coagulase positive et en particulier de *S. aureus* dans des échantillons de lait (Marques et al., 2013). Selon Tang (2015) la présence de l'enzyme Dnase chez les Staphylocoques à coagulase négatives varie entre 8 et 63%, la distribution dépendant de la source des souches étudiées.

### **III.2.1.5 Les tests de sensibilité aux antibiotiques et la détermination de la concentration minimale inhibitrice par automate Vitek 2**

Dans la présente étude, les antibiotiques sont choisis pour l'antibiogramme en tenant compte des médicaments les plus fréquemment utilisés pour le traitement des mammites bovines en Algérie. Pour cela, l'activité de 13 agents antibactériens est testée in vitro contre des souches de staphylocoques isolés à partir de la mammite subclinique chez les vaches en lactation.

D'après le Tableau 26, la résistance aux antibiotiques a été rencontrée dans 80 souches de staphylocoques isolées. La résistance était plus fréquente chez les espèces de *S. aureus* avec 21 souches résistantes, suivies par *S. xylosus* avec 11 souches résistantes aux antibiotiques.

En littérature, la résistance multiple signifie : « la résistance à plus d'un agent antimicrobien », mais aucune définition normalisée pour la multirésistance n'a encore été convenue par la communauté médicale (Magiorakos *et al.*, 2012).

**Tableau 26. La résistance multiple aux antibiotiques parmi les souches de Staphylocoques isolées.**

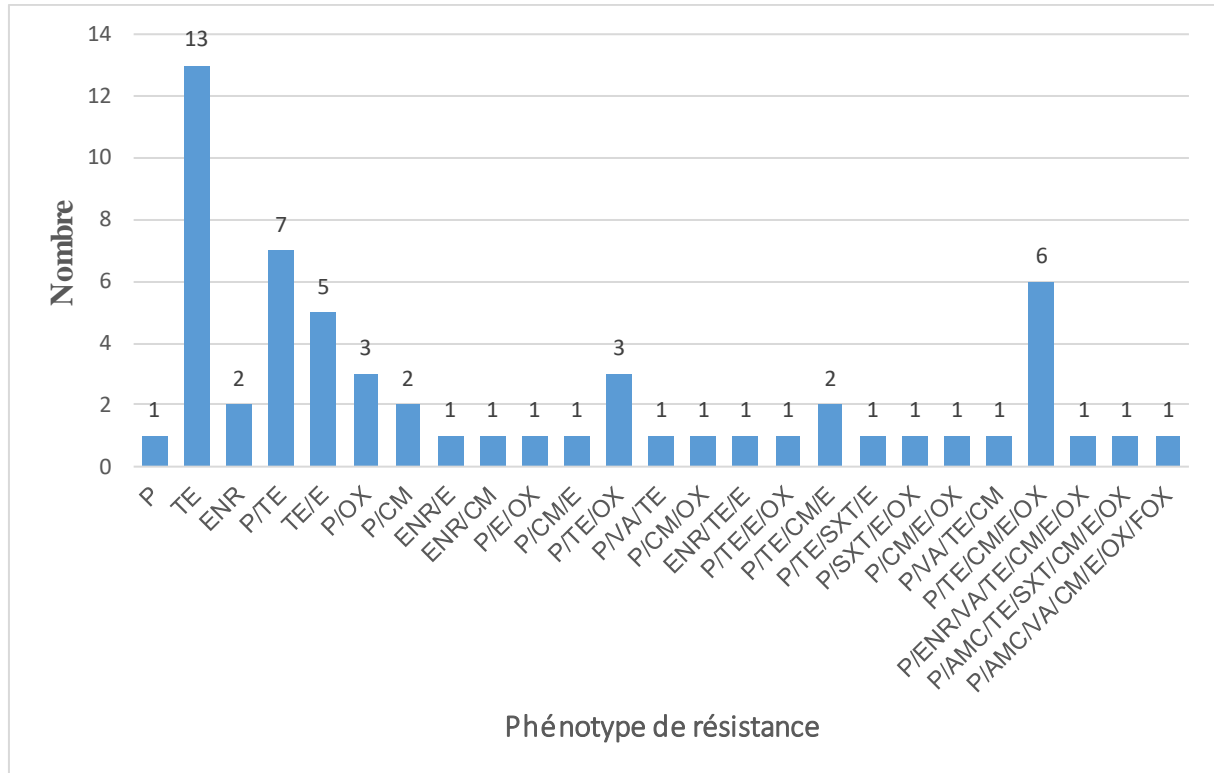
Les espèces	Les souches résistantes	Nombre de souches résistantes par rapport au nombre d'antibiotiques								Les souches multirésistantes
		1	2	3	4	5	6	7	8	
<i>S. aureus</i>	21	8	5	4	1	2	1	-	-	13
<i>S. xylosus</i>	11	2	3	4	1	-	-	1	-	9
<i>S. hominis</i>	06	1	2	2	1	-	-	-	-	5
<i>S. caprae</i>	06	3	-	-	3	-	-	-	-	3
<i>S. intermedius</i>	06	6	-	-	-	-	-	-	-	0
<i>S. auricularis</i>	02	-	1	-	-	1	-	-	-	2
<i>S. chromogenes</i>	05	-	2	-	-	2	-	1	-	5
<i>S. scuri</i>	03	-	1	-	2	-	-	-	-	3
<i>S. simulans</i>	01	1	-	-	-	-	-	-	-	0
<i>S. epidermis</i>	06	1	4	1	-	-	-	-	-	5
<i>S. warneri</i>	02	-	1	-	1	-	-	-	-	2
<i>S. capitis</i>	02	1	1	-	-	-	-	-	-	1
<i>S. hemolyticus</i>	05	-	3	1	-	1	-	-	-	5
<i>S. lentus</i>	02	1	-	-	-	-	-	-	1	1
<i>S. hyicus</i>	02	1	-	-	-	1	-	-	-	1
Total	80	25	23	12	9	7	1	2	1	55

La recherche sur les résistances aux antibiotiques des agents pathogènes a révélé que, par suite de défi permanent aux antibiotiques, des agents pathogènes acquièrent le plus souvent des résistances et des résistances multiples (Kapil, 2005 ; Kresken *et al.*, 1999 ; Livermore, 2007).

De 21 isolats de *S. aureus*, 13 (61,9%) isolats étaient avec un phénotype de multi-résistance. Un niveau remarquable de la résistance multiple (résistance à au moins deux antibiotiques selon Soares *et al.*, (2011) a été observé, 55 (28,6%) isolats sont multi-résistants avec des souches de *S. xylosus* et *S. chromogenes* atteignant sept résistances aux antibiotiques par souche, alors que *S. lentus* a atteint jusqu'à huit résistances aux antibiotiques par souche (Figure 18).

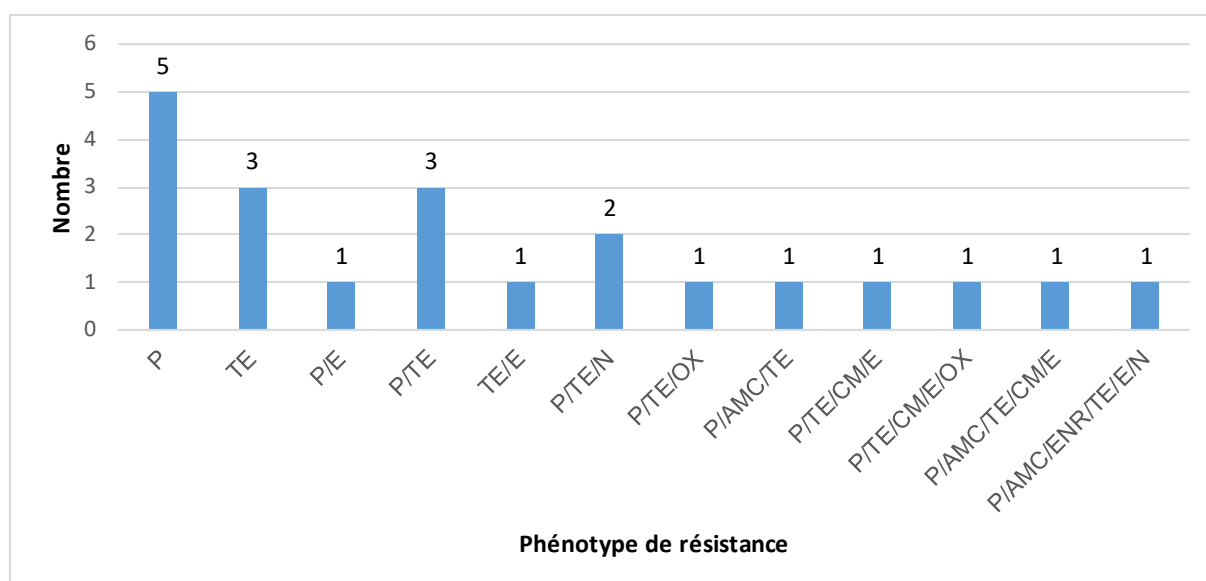
Les différents multi-résistants observés dans la présente étude peuvent être dus à l'émergence de nouvelles souches d'organismes dans notre région.

Nous avons noté que pour les 21 souches de *S. aureus*, 11 phénotypes de résistances différents dominés par la résistance à la pénicilline G, cela est représenté dans la Figure 18.



**Figure 18. Profils de résistance aux antibiotiques d'isolats de *S. aureus***

Au total, nous avons noté que pour les 59 souches de Staphylocoques à coagulase négatives, 25 phénotypes de résistances différents, la plupart des isolats (72,88%, n=43) étaient résistants à plus d'un agent antimicrobien ; elles sont largement dominées par le phénotype « Tétracycline », cela est représenté dans la Figure 19.



**Figure 19. Profils de résistance aux antibiotiques d'isolats de Staphylocoques à coagulase négative**

Nos résultats indiquent une augmentation de la résistance aux antibiotiques de Staphylocoques isolés de la mammite ; ce qui est en accord avec les résultats de (Pyorala et al., 2009).

Les résultats de l'antibiogramme et la mesure de la CMI, pour les souches de *S. aureus*, sont représentés dans le Tableau 27.

**Tableau 27. Le test de sensibilité des *S. aureus* pour différents antibiotiques et la CMI réalisée par automate VITEK 2**

Antibiotique s <sup>a</sup>	Degré de résistance <sup>b</sup>						$\chi^2$	ddl	p	Le test du CMI $\chi^2$ ddl P (VTTEK2) <sup>c</sup>			
	R %		I %		S %					S %		R %	
	R	%	I	%	S	%				S	%	R	%
PENI	17	80.95	0	0.00	4	19.04				5	23.80	16	76.19
AMC	3	14.28	1	4.76	17	80.95							
ENR	1	4.76	1	4.76	19	90.47				20	95.23	1	4.76
VAN	0	0.00	1	4.76	20	95.23				20	95.23	1	4.76
TE	15	71.43	0	0.00	6	28.57				5	23.80	16	76.19
SXT	0	0.00	0	0.00	21	100				21	100	0	0.00
CM	3	14.29	0	0.00	18	85.71	124.9	24	<0.001	18	85.71	3	14.29
E	6	28.57	0	0.00	15	71.43				15	71.43	5	23.80
N	3	14.28	1	4.76	17	80.95				17	80.95	4	19.04
OX	2	9.52	1	4.76	18	85.71				19	90.47	2	9.52
GM	0	0.00	0	0.00	21	100				21	100	0	0.00
FOX	0	0.00	0	0.00	21	100				19	90.47	2	9.52
BA	0	0.00	0	0.00	21	100							

<sup>a, b, c</sup> : CLSI 2008

Dans la présente étude, les isolats de *S. aureus* ont montré une forte résistance à la pénicilline G et à la tétracycline 80,95 % et 71,43 % respectivement. La prévalence élevée de cette résistance, est en accord avec les résultats de (Jamali et al., 2014) en Malaisie (86% et 76.6%) et les résultats de (Wang et al., 2015) en Chine de (90.4% et 74.4%). Nos résultats divergent avec celle de (Botrel et al., 2010) en France qui ont trouvé une très faible prévalence (17 % et 1.4%), et avec l'étude réalisée dans l'union européenne par (Thomas et al., 2015) dans laquelle la résistance à la pénicilline est de (50,0%) en Italie, (15,5%) dans les Pays-Bas et, (37,5%) en France.

Le pourcentage élevé de résistance des isolats de *S. aureus* à la pénicilline et la tétracycline peut être dû à l'administration étendue de ces antimicrobiens dans les fermes laitières (Jamali et al., 2015). En plus, il est postulé que la résistance est exacerbée par l'utilisation fréquente des préparations intra-mammaires par les agriculteurs (Kateete et al., 2013). En Algérie les bêta-lactamines y compris la Pénicilline G sont largement utilisés dans le traitement de la mammité sans aucun test de la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de ces antimicrobiens.

La Gentamicine est très active contre *S. aureus* ; aucune résistance n'a été trouvée. Ce résultat est similaire aux résultats obtenus par (Mubarack et al., 2012) en Inde, (Gooraninejad et al., 2007) en Iran et (Abera et al., 2010) en Ethiopie et de (Saidi et al., 2015) en Algérie.

Il est intéressant de noter que la présente étude a révélé une susceptibilité complète (100%) des souches de *S.aureus* à de nombreux antibiotiques, y compris le triméthoprime-sulfaméthoxazole, la gentamycine, la céfoxitine et la bacitracine ; le même résultat a été signalé dans l'est algérien par (Bakir et al., 2011) ; un résultat similaire de (Ben Hassen et al., 2003) en Tunisie est observé pour le triméthoprime-sulfaméthoxazole, la gentamycine, la vancomycine. De même (Malinowski et al., 2002) en Pologne ont signalé une faible résistance pour la bacitracine de 7,1%.

Le pourcentage élevé de la sensibilité à ces familles d'antibiotiques pourrait être la cause de leurs utilisations moins fréquentes dans la pratique vétérinaire en Algérie, en raison du coût élevé de ces médicaments.

La résistance à l'Erythromycine est de 28,57%, le même résultat a été signalé par (Unakal et al., 2010) en Inde de 27.94%, et contrairement à (Wang et al., 2015) en Chine qui a trouvé une forte prévalence pour ce médicament 79.9%. Une faible résistance à la clindamycine de 14,29% est constatée dans la présente étude ; elle est inférieure à la résistance trouvée par (Jamali et al., 2014) en Malaisie avec 34,9% et largement inférieure à (Wang et al., 2015) en Chine avec 77.2%. La résistance globale de *S. aureus* isolée à partir des mammites bovines,

---

aux macrolides (Erythromycine) et lincosamides (clindamycine) dans différents pays est faible ou rare (De Oliveira et al., 2000 ; Russi et al., 2008).

Dans la présente étude une résistance faible est détectée pour l'amoxicilline 14,28%, mais reste supérieure au résultat de (Guler et al., 2005) en Turquie qui n'a détecté aucune résistance, et franchement inférieure au résultat de (Unakal et al., 2010) en Inde qui montre une résistance de 63.23%. L'activité synergétique élevée de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique dépendant de leur résistance à l'enzyme de  $\beta$ -lactamase. L'acide clavulanique est un inhibiteur de  $\beta$ -lactamase (Oncel et al., 2004). Les informations sur la susceptibilité de *S. aureus* à partir du lait à l'amoxicilline / acide clavulanique est rare dans la littérature (Tenhagen et al., 2006).

Une faible résistance a été détectée pour l'enrofloxacin 4,76 % qui est similaire aux résultats de (Nahed et al., 2013) en Égypte avec 4,8 %. Pour la néomycine, on a signalé une faible résistance de 14,28% qui reste supérieure à celle de (Malinowski et al., 2002) en Pologne 9,3% et 10,7% en Turquie par (Turutoglu et al., 2006), et diverge des résultats de (Saidi et al., 2015) qui ont trouvé une sensibilité de 100% pour cet antibiotique.

Malgré l'utilisation fréquente de la néomycine dans la pratique vétérinaire en Algérie sous forme de pommades intra mammaire surtout, la sensibilité élevée remarquée dans la présente étude est justifiée par l'utilisation associée de cette molécule avec d'autres antibiotiques pour assurer une activité à large spectre couvrant toutes les bactéries communément rencontrées dans les mammites.

Selon nos résultats, 02 (9,52%) isolats de *S. aureus* sont des *S.aureus* résistants à la meticilline (SARM), avec modification de Protéines liant les pénicillines (PLP), identifiés par le test de disque de l'oxacilline avec un diamètre de :  $R \leq 10$  mm, et confirmés par une CMI  $\geq 4$   $\mu\text{g/litre}$ . Le test de disque de céfoxitine à 30  $\mu\text{g}$  pour détecter la résistance à la meticilline des *S. aureus* par diffusion de disque sur gélose a donné un résultat avec un diamètre de :  $S \geq 22$  mm donc négatif ; ce qui est contradictoire avec la CMI  $\geq 8$   $\mu\text{g/litre}$  qui indique un test positif pour le test de céfoxitine screen par le système automatisé VITEK2 de BioMérieux.

Une conclusion similaire, trouvée par une étude réalisée en Suisse, a démontré que sur 142 souches *S. aureus* obtenues à partir de 2,662 échantillons prélevés sur la mammite bovine, seulement 2 (1,42%) isolats étaient positifs pour le SARM (Vishnupriya et al., 2014).

Dans la présente étude, le système Vitek 2 de BioMérieux a été utilisé pour la première fois en Algérie pour tester la sensibilité aux antibiotiques (la concentration minimale inhibitrice) dans les études sur la sensibilité des germes isolés des mammites subcliniques des vaches, le test a été effectué selon les instructions du fabricant. Les lectures ont été prises automatiquement toutes les 15 min.

---

Plusieurs travaux ont élaboré la fiabilité et la capacité des systèmes automatisés comme le système VITEK2 de BioMérieux pour détecter la résistance aux différents antibiotiques chez les staphylocoques (Winstanley et al., 2011).

Les valeurs critiques des CMI pour *S. aureus* sont utilisées selon les recommandations du CLSI (Institut des normes cliniques et de laboratoire). Pour le test de sensibilité à l'oxacilline : une CMI  $\leq 2$   $\mu\text{g/litre}$  indique la susceptibilité, et une CMI  $\geq 4$   $\mu\text{g/litre}$  indique la résistance. Ainsi pour le test de céfoxitine screen : une CMI  $\leq 4$   $\mu\text{g/litre}$  indique un test Négatif, et une CMI  $\geq 8$   $\mu\text{g/litre}$  indique un test Positif.

En général, on a observé une bonne concordance entre l'antibiogramme et la mesure de la CMI pour toutes les souches de *S. aureus* ; ce qui est représenté dans (le tableau 3), sauf pour la méthode phénotypique de disque de céfoxitine à 30  $\mu\text{g}$  qui a trouvé un résultat contradictoire avec la CMI.

Selon Felten et al., (2002), une étude réalisée en France indique que le test de disque de céfoxitine 30  $\mu\text{g}$  a montré une spécificité et une sensibilité de 100% pour la détection du SARM avec les critères d'interprétation de diamètre de la zone  $< 27$  mm.

Pour l'étude de (Skov et al., 2003) en Danemark, la méthode de la céfoxitine était excellente avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 99% en utilisant un diamètre de la zone d'interprétation de S  $\geq 29$  mm et R  $< 29$  mm.

Ces diamètres sont supérieurs à ceux correspondant aux perspectives de l'institut des normes cliniques et de laboratoire (CLSI) pour les valeurs de diffusion de disque, mais peuvent être la justification de nos résultats.

Le système automatisé VITEK 2 de BioMérieux s'est avéré capable dans la détection reproductible et l'interprétation avec un haut niveau de précision et de normalisation des mécanismes de résistance des souches de *S. aureus* (Livermore et al., 2002 ; Kobayashi et al., 2004 ; Roisin et al., 2008).

Peu d'études ont signalé la résistance de la vancomycine de *S. aureus* dans la mammite bovine en Algérie.

La vancomycine est le choix le plus fiable pour contrôler les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM). Récemment, les SARM sont devenues résistantes à la vancomycine, qui génère une crise pour les contrôler (Mandal et al., 2015).

L'institut des normes cliniques et de laboratoire (CLSI) a abaissé les valeurs critiques de la CMI de la vancomycine à partir de 4  $\mu\text{g/mL}$  à 2  $\mu\text{g/mL}$  pour les souches sensibles et de 32  $\mu\text{g/mL}$  à 16  $\mu\text{g/mL}$  pour les souches résistantes en 2006 (Huang et al., 2015).



Pour la résistance à la vancomycine par la méthode de diffusion par disque sur gélose, nos résultats sont en accord avec (Botrel et *al.*, 2010) en France dans laquelle aucune résistance n'a été signalée. Dans la présente étude, nous avons trouvé une souche à résistance intermédiaire pour la vancomycine.

Après la confirmation par la CMI de la vancomycine, il s'est avéré que cette souche est une (VRSA) qui signifie une souche de *S. aureus* résistante à la vancomycine avec une CMI  $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ , et une deuxième souche hétéro-VISA avec une CMI  $> 1 \mu\text{g/ml}$ .

Hétéro –VISA est défini comme des souches de *S. aureus* sensibles à la vancomycine mais avec présence d'une sous population intermédiaire à la vancomycine (Chaudhari et *al.*, 2015, Hiramatsu et *al.*, 2014).

Pour *S. aureus*, une résistance intermédiaire hétérogène à la vancomycine semble être l'étape qui précède le développement de la résistance intermédiaire à cette molécule (Maor et *al.*, 2009).

Le mécanisme de la résistance génétique et biochimique à la vancomycine dans *S. aureus* est toujours mal connu (Hasan et *al.*, 2016).

La concentration minimale inhibitrice des isolats, l'hétéro-VISA est dans la gamme des souches sensibles, mais les sous-populations de VISA sont présents à la fréquence de  $< 10^5$ - $10^6$  (Maor et *al.*, 2009).

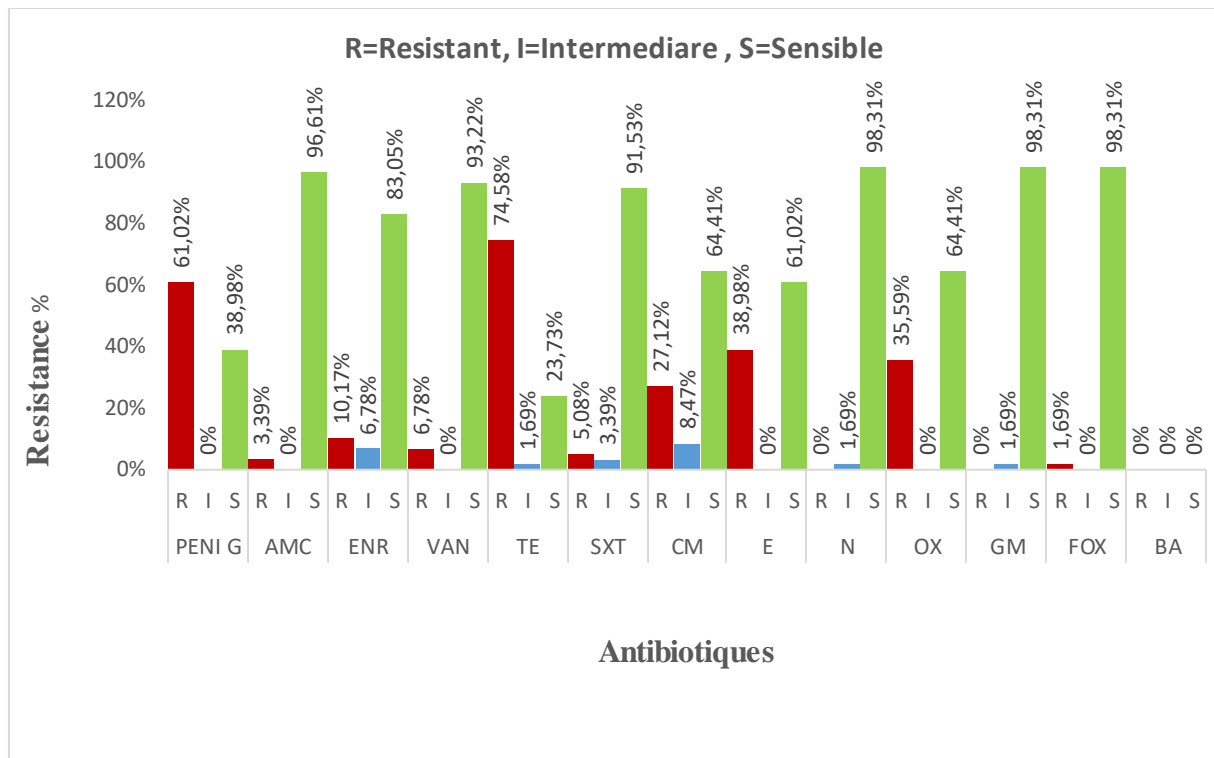
Les critères d'interprétation (en millimètre) de la CLSI définissent seulement le caractère de la sensibilité pour le disque de vancomycine qui est  $\geq 15 \text{ mm}$ . Pourtant, ces derniers ne sont pas fiables pour détecter les souches de VISA.

Dans la présente étude, les résultats bactériologiques indiquent une prévalence élevée des Staphylocoques à coagulase négative avec 73,75% ; plusieurs études ont constaté que la majorité des bactéries provenant de vaches atteintes de mammite subclinique sont des Staphylocoques à coagulase négative, en Algérie (Bakir et *al.*, 2011) et en Ouganda (Kateete et *al.*, 2013). Depuis longtemps les Staphylocoques à coagulase négative sont considérés comme des agents pathogènes mineurs, et sont généralement associés à une légère augmentation du nombre de cellules somatiques dans le lait pendant les infections intra-mammaires. (Ben Hassen et *al.*, 2003).

En Europe les Staphylocoques à coagulase négative d'origine bovine sont la plupart du temps signalés être sensibles aux agents antimicrobiens. (Taponen et *al.*, 2009).

Selon (Waller et *al.*, 2011), la résistance, à d'autres antimicrobiens que la pénicilline des staphylocoques à coagulase négative, était rare. Ce qui n'est pas le cas dans notre étude. La

sensibilité des souches de Staphylocoques à coagulase négative vis-à-vis 13 agents antimicrobiens testés dans cette étude sont présentés dans (Figure 20).



**Figure 20. Antibiogrammes des Staphylocoques à coagulase négative isolées**

Dans la présente étude les Staphylocoques à coagulase négative sont plus sensibles que *S. aureus* vis-à-vis de la pénicilline, avec 61,02 % contre 80,95%. Pour les staphylocoques à coagulase négative, la pénicilline est l'antibiotique le moins efficace ; ce qui concorde avec l'étude réalisée en Turquie par (Turutoglu et al., 2006).

Une moindre activité a été retrouvée pour la tétracycline avec 74,58% de résistance, la même sensibilité diminuée est observée dans une étude en Corée entre 2003 et 2008 par (Kim et al., 2010) avec 80,1% de résistance.

Dans la présente étude, l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des staphylocoques à coagulase négative a fait ressortir des fréquences de résistance de 5,08% pour SXT, et des sensibilités à 100% pour la gentamycine et la néomycine ; les mêmes résultats ont été trouvés par (Bakir et al., 2011) dans l'Est de l'Algérie.

La résistance aux macrolides et lincosamides a été signalée pour les Staphylocoques à coagulase négative isolés dans le lait des vaches avec la mammite subclinique (Luthje et al., 2006).

Dans la présente étude, une résistance de 38,98% et 27,12% est pour l'érythromycine et la clindamycine respectivement. Notre résultat est nettement supérieur à ce qui est trouvé pour

l'érythromycine en Algérie par (Bakir et *al.*, 2011) et en Zimbabwe par (Kudinha T et *al.*, 2002) qui ont trouvé 100% de sensibilité, et supérieur à celui de (Botrel et *al.*, 2010) en France et (Gooraninejad et *al.*, 2007) en Iran avec 7,3 % et 12,58% respectivement. Pour la clindamycine 2,9%, 13,7% et 15,4% ont été trouvés par (Botrel et *al.*, 2010) en France (Kudinha et *al.*, 2002) en Zimbabwe et (Turutoglu et *al.*, 2006) en Turquie.

Pour l'enrofloxacin et la vancomycine, on a constaté une bonne activité de ces antimicrobiens avec une faible résistance de 10,17% et 6,75% ; elle diverge avec les résultats de (Botrel et *al.*, 2010) en France qui ont trouvé une sensibilité de 100%.

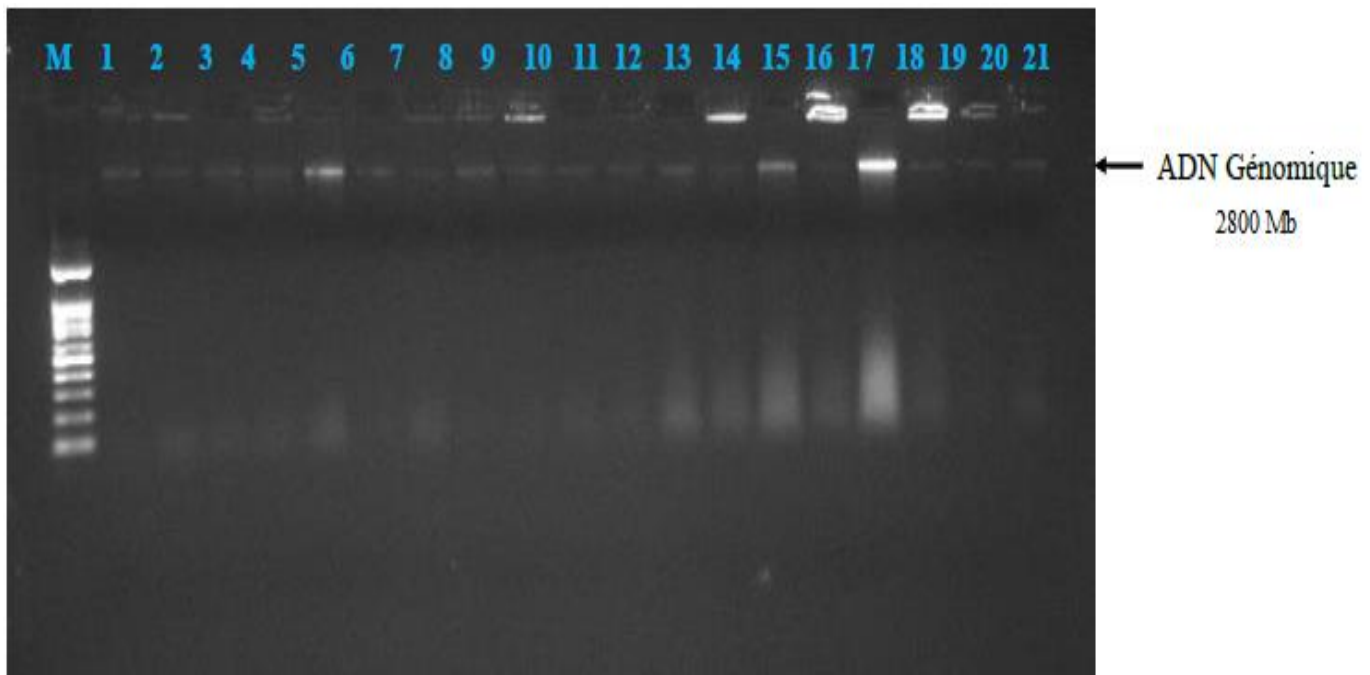
Les isolats de Staphylocoques à coagulase négative sont résistants à l'oxacilline avec 35,59%, mais une souche (1,69%) a été résistante à la céfoxitine par la méthode de diffusion sur disque ; ce qui implique qu'elle est méticilline résistant . Cette constatation concorde avec celle de (Ben Hassen et *al.*, 2003) en Tunisie avec 1,7%.

Dans la présente étude, une différence de sensibilité aux antimicrobiens parmi les espèces de Staphylocoques à coagulase négative a été observée ; ce qui est également décrit par (Waller et *al.*, 2011). Ces Staphylocoques à coagulase négative peuvent donc servir comme des réservoirs de gènes de résistance aux antimicrobiens dans l'environnement (Sawant et *al.*, 2009).

### **III.3 Étude génotypique des gènes de virulences *coa* et *nuc***

L'analyse épidémiologique et moléculaire des espèces bovines de *S. aureus* suggère qu'un petit nombre de types clonaux étaient responsables de la plupart des infections. *S. aureus* a la capacité de produire un grand nombre de facteurs de virulence. Certains de ces facteurs peuvent avoir plus d'importance que d'autres dans différentes maladies ou à différents stades de la pathogenèse des infections particulières, car tous les éléments ne sont produits par chaque souche (Kalorey et *al.*, 2007).

Dans la présente étude pour la mise en évidence des gènes de virulence l'ADN servant la matrice de l'amplification est vérifié sur gel d'agarose, et les profils électrophorétiques sont représentés dans la Figure 21.



**Figure 21. Migration des échantillons d'ADN des souches de *S.aureus* sur gel d'agarose. M : Marqueur de poids moléculaire de 100 pb.**

La flèche montre la bande qui correspond à l'ADN génomique de *S.aureus* avec un poids moléculaire approximatif 2800 Mb.

La présence d'une bande pour tous les échantillons et l'absence d'un « smear » nous donne une idée sur l'intégrité et la bonne qualité de l'ADN (absence de dégradation). Ces échantillons vont servir comme matrices au cours de la réaction de la PCR.

### III.3.1 Le gène *coa*

L'expression du gène codant la coagulase (*coa*) est utile pour améliorer la croissance bactérienne et favoriser l'infection en face de mécanismes de défense de l'hôte (Karahan et al., 2007).

La coagulase est considéré comme le facteur de virulence le plus important qui coagule le plasma par activation conformationnelle de la prothrombine (Fournier et al., 2008), et couvre la cellule bactérienne, empêchant ainsi la phagocytose qui permet de capturer les staphylocoques dans un réseau de fibrine, de diffuser et de résister au mécanisme opsonophagocytaire des cellules immunitaires de l'hôte. Il transforme le fibrinogène en fibrine (Coelho et al., 2011), puis conduit à la formation d'abcès et à la persistance de micro-organisme dans le tissu hôte (Abdeen et al., 2015).

Le gène codant le coagulase (*coa*) est responsable de l'invasion de *S. aureus* dans l'épithélium mammaire. Le polymorphisme du gène *coa* se trouve adéquat pour l'enquête épidémiologique de la mammite bovine à *S. aureus* (Sahu et al., 2014).

---

Cette méthode de génotypage basée sur la PCR a fourni des informations épidémiologiques détaillées sur *S.aureus* (Moon et al., 2007).

Dans la présente étude, les 21 isolats de *S. aureus* sont soumis à une amplification par PCR de l'extrémité 3' du gène *coa*, et le résultat a révélé que tous les isolats donnent une seule bande comprise entre 547 pb et 875 pb (Figure 22).

Les résultats de la présence du gène *coa* ont montré que les phénomènes de polymorphisme de ce gène conduit à des poids moléculaires différents ; ce qui concorde avec l'étude de (Abbas et al., 2014) qui a trouvé entre 500 pb et 850 pb.

*S. aureus* est capable de produire des poids moléculaires différents trouvés dans les phénomènes de polymorphisme et cette enzyme est utilisée pour classer les isolats en fonction des différents poids moléculaires dans les études épidémiologiques (Da Silva et al., 2005).

Par ailleurs (Da Silva et al., 2005) ont montré que l'amplification du gène *coa* de *S. aureus* isolé de la mammite de vache produits 27 produits de PCR différents, qui variaient de 579 à 1442 pb.

Aussi Hooley et al., (1999) détecte la taille du produit de PCR coagulase isolats de *S. aureus* de sujets humains qui étaient soit 660, 603 ou 547 pb.

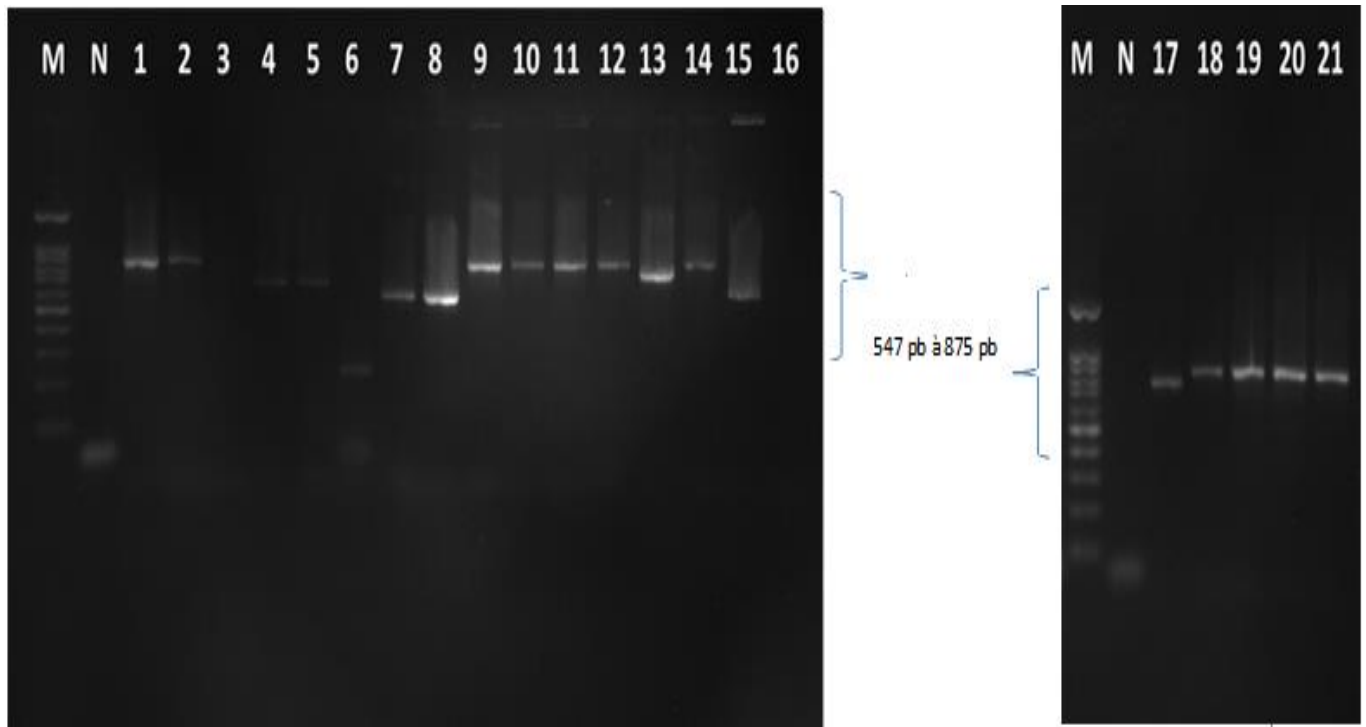
En outre, Reinoso et al., (2008) détecte que l'amplification par PCR du gène de *S. aureus* *coa* isolé à partir d'échantillons humains, de la mammite subclinique bovine et des échantillons d'aliments a abouti à différents types de tailles d'amplicons allant de 400 à 1000 pb.

La présence du gène *coa* dans les 19 isolats de *S.aureus* est due au fait que tous les isolats inclus dans l'étude sont des producteurs caagulase comme le prouvent les tests biochimiques.

Comme le montre la Figure 22, 3 isolats de *S. aureus* ne montraient aucune bande à l'ensemble de cette amorce qui peut être due à un polymorphisme du gène.

Cette constatation est d'accord avec Aslantas et al., (2007) qui a montré que *S. aureus* donne 5 produits différents du PCR pour le gène *coa*.

En outre, Momtaz et al., (2011) indique que le gène de la coagulase a différents produits de PCR indiquant le polymorphisme du gène.



**Figure 22. Migration des produits de PCR du gène *coa* sur gel d'agarose 1%. M : Marqueur de poids moléculaire de 100 pb, N : contrôle négatif, les pistes de 1 à 21 représentent les produits de PCR.**

### III.3.2 Le gène *nuc*

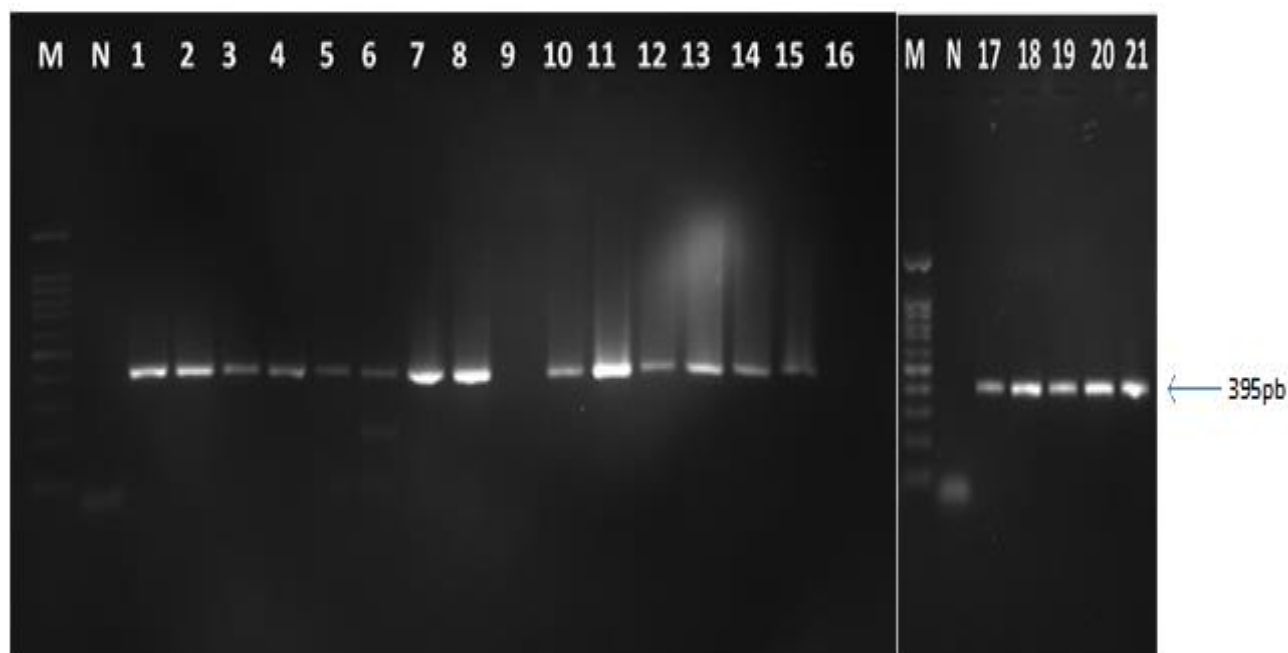
Les souches de *S. aureus* produisent une nucléase thermostable extracellulaire avec une fréquence similaire à celle au cours de laquelle ils produisent de la coagulase (Brakstad et al., 1992).

La TNase provoque la destruction des tissus et la propagation de *S. aureus* (Sandel et al., 2004 ; Hu et al., 2013).

Dans la présente étude, les amorces utilisées pour le gène *nuc* ont reconnu 19 isolats de *S. aureus* parmi les 22 isolats (Figure 23). Selon Brakstad et al., (1992) le gène *nuc* a des séquences qui, d'une part, se trouvent dans tous les isolats de *S. aureus* et, d'autre part, sont propres à des bactéries de cette espèce.

L'espèce est confirmée par la détection du gène codant pour la nucléase thermostable de *S. aureus* (*nuc*).

Le gène *nuc* est la ligne de base dans l'identification et la classification de *S. aureus* et, dans la présente étude, la taille moléculaire du produit d'amplification du gène *nuc* est de 395pb. Dans l'étude de Wilson et al., (1991) la taille moléculaire était de 450 pb du gène *nuc*. Tandis que Ali et al., (2014) ont utilisé un fragment d'une longueur égale à 270 pb.



**Figure 23: Détection par PCR du gène nuc. M: Marqueur de poids moléculaire de 100 pb, N : contrôle négatif.**

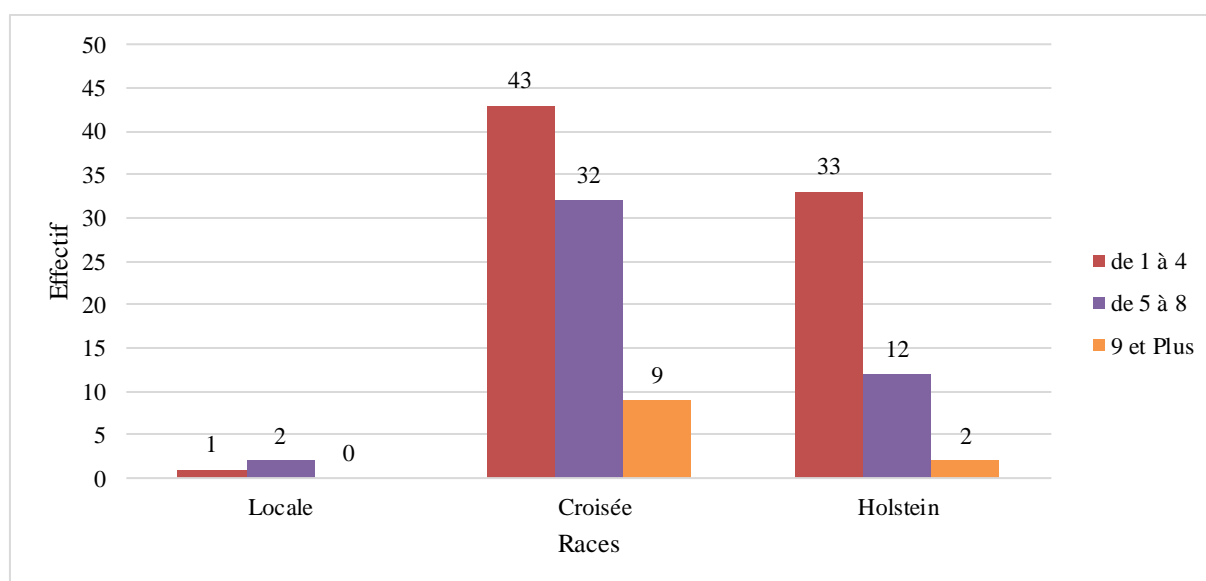
### **III.4 Les facteurs de risques**

La mammite subclinique a une nature multifactorielle qui implique une interaction claire entre l'hôte, l'agent causal et l'environnement (Thrusfield, 2005). Pour cette raison, les facteurs étudiés, ici, ont été déterminés comme des facteurs de risque hypothétiques affectant la mammite comme la race (Bendixen et *al.*, 1988), la saison, l'âge (Hultgren, 2002) et la gestion (McDougall, 2003).

#### **III.4.1 La relation entre la mammite subclinique et l'âge**

La relation entre la mammite subclinique et l'âge est présentée dans le tableau 4.

Les résultats indiquent que, parmi les 134 vaches atteintes de mammite subclinique, 77 appartenaient au groupe d'âge de 1-4 ans, dont 43 (55,84%) étaient respectivement des vaches croisées et 33 (42,86%) des vaches Holstein.



**Figure 24. La relation entre la mammite subclinique et l'âge selon la race**

Tandis que 46 vaches au sein du groupe d'âge de 5-8 ans avaient une mammite subclinique qui comprenait 32 (69,57%) et 12 (26,09%) de vaches croisées et Holstein et seulement 11 vaches dont l'âge est de 9 ans et plus avaient des mammites subclinique qui comprenait 9 (81,82) % et 2 (18,18 %) des vaches croisées et Holstein respectivement.

Les vaches peuvent contracter l'infection de la mamelle à différents âges. Les vaches varient également dans leur capacité à surmonter une infection, une fois établie. L'apparition de la mammite peut être influencée par certaines caractéristiques héréditaires telles que la capacité de production de lait, les structures et la conformation des trayons (Schutz., 1994, Radostits et *al.*, 1994).

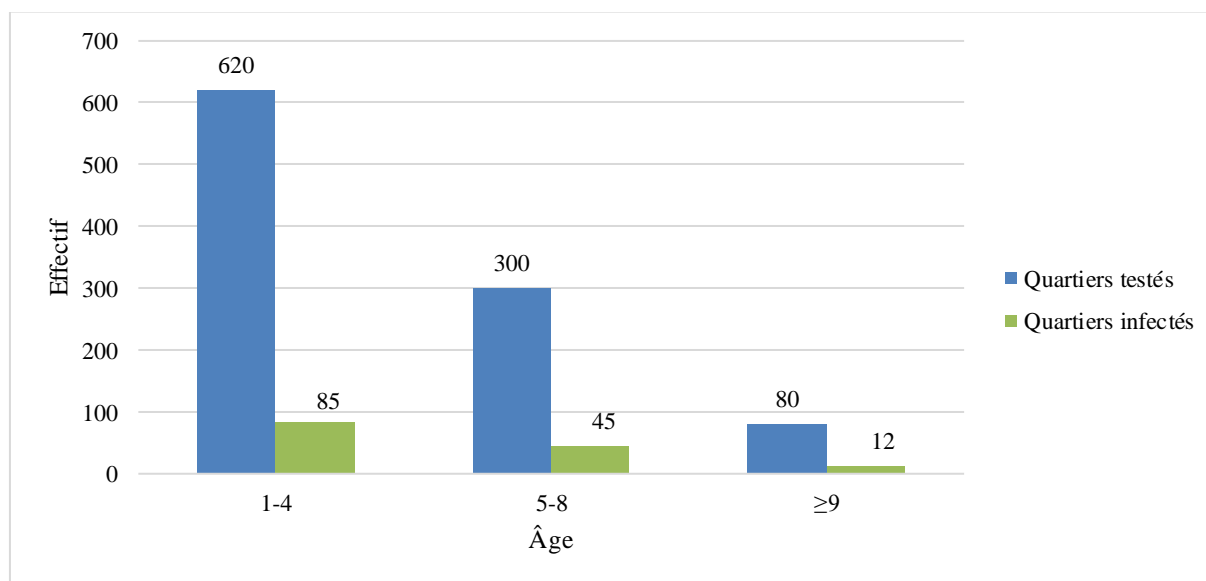
Plusieurs auteurs ont rapporté une augmentation de la fréquence de la mammite subclinique avec l'âge (Abdel-Rady et *al.*, 2009, Moges et *al.*, 2012).

Nos résultats dans le Tableau 28, étaient en désaccord avec ceux rapportés par ces auteurs puisque le groupe d'âge de 1-4 ans était le plus sensible à la mammite subclinique que ceux de 5-8 ans et plus, et en accord avec celui de (Elbably et *al.*, 2013) qui ont signalée que l'âge de de 3-5 ans est le plus touché par la mammite subclinique.

Cependant, des études dans d'autres régions ont signalé une prévalence plus élevée chez les génisses par rapport aux vaches plus âgées ; cela pourrait être dû à des différences dans les pratiques de gestion et un mauvais état hygiénique pendant le vêlage (McDougall et *al.*, 2009).

La prévalence des quartiers infectés par les staphylocoques dans la présente étude est supérieure dans le groupe d'âge de 1-4 an (Figure 25) avec 85 (13,71 %) quartiers, parce que *S. aureus* est adapté à survivre dans la mamelle et à établir des infections subcliniques et chroniques (Abera et *al.*, 2010).





**Figure 25. La relation entre les quartiers infectés et l'âge**

Selon Haftu *et al.*, (2012) la prévalence des quartiers infectés augmente avec l'âge. Cela peut être attribué au temps et à la durée prolongée de l'infection, en particulier dans un troupeau sans programme de contrôle de la mammite.

La différence possible dans la pathogénicité mammaire des organismes impliqués dans l'infection intra-mammaire parmi les génotypes peuvent également exister (Gonzalez-Rodriguez *et al.*, 1995).

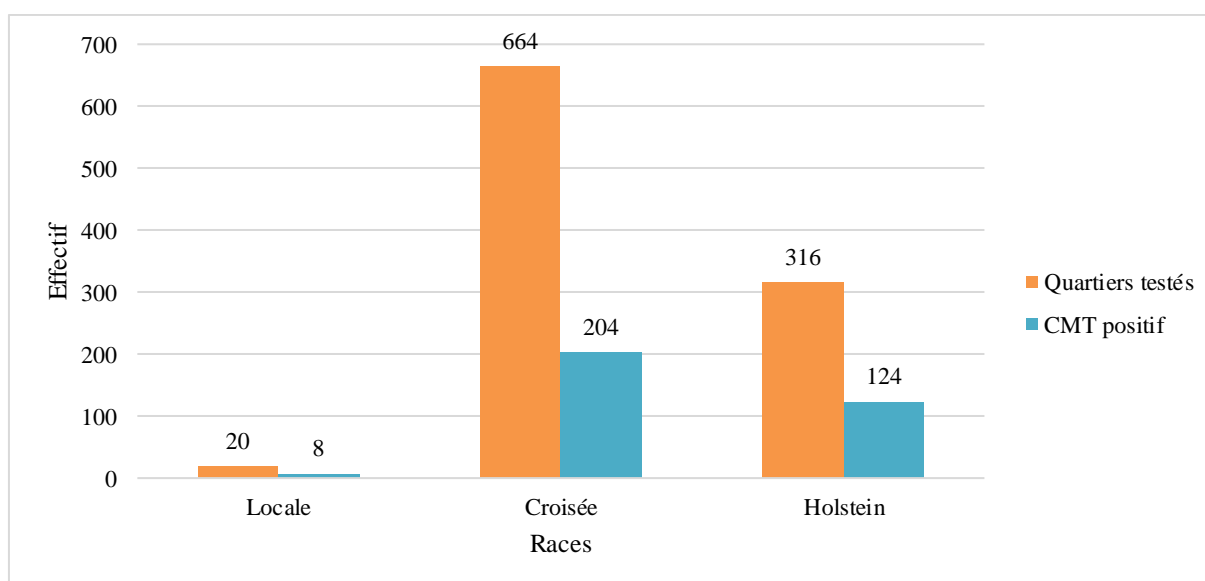
La forte prévalence de la mammite clinique chez les vaches âgées peut être due à une diminution de l'immunité et de la résistance des bactéries aux antibiotiques qui ont été indifféremment utilisés pour le traitement de la mammite au cours des infections antérieures (Kurjogi *et al.*, 2014).

### III.4.2 La relation entre la mammite subclinique et la race

Avec l'étude du facteur de race (Tableau 28), le test CMT dépend de ce facteur avec ( $p=0,026$ ).

**Tableau 28. La relation entre la mammite subclinique et la race**

Races	Quartiers testés	CMT positif (%)	$\chi^2$	(p)
Locale	20	8 (2, 38%)	7,337	(0,026)
Croisée	664	204 (60, 71%)		
Holstein	316	124 (36, 90%)		
Total	1000	336 (100%)		



**Figure 26. Distribution des CMT positif selon la race**

Le résultat du test CMT effectué dans la présente étude a montré que la prévalence de la mammite subclinique aux niveaux de quartiers était significativement plus élevée chez les vaches croisées 204 (30,72%) quartiers que chez les vaches Holstein 124 (36,9%) et les vaches locales 8 (2,38 %) quartiers respectivement (Tableau 28).

Cette prévalence élevée peut être attribuée au type d'élevage des animaux, puisque la plupart des bovins impliqués dans cette étude étaient des races croisées.

D'autre part, cette différence entre les races pourrait être due à d'autres facteurs non contrôlés, tels que la gestion des exploitations agricoles, plutôt qu'à une vraie différence de race, puisque les vaches dans cette étude ne sont pas toutes dans les conditions correspondantes ; ce qui concorde avec l'étude de (Lakew et *al.*, 2009) qui ont constaté cette différence.

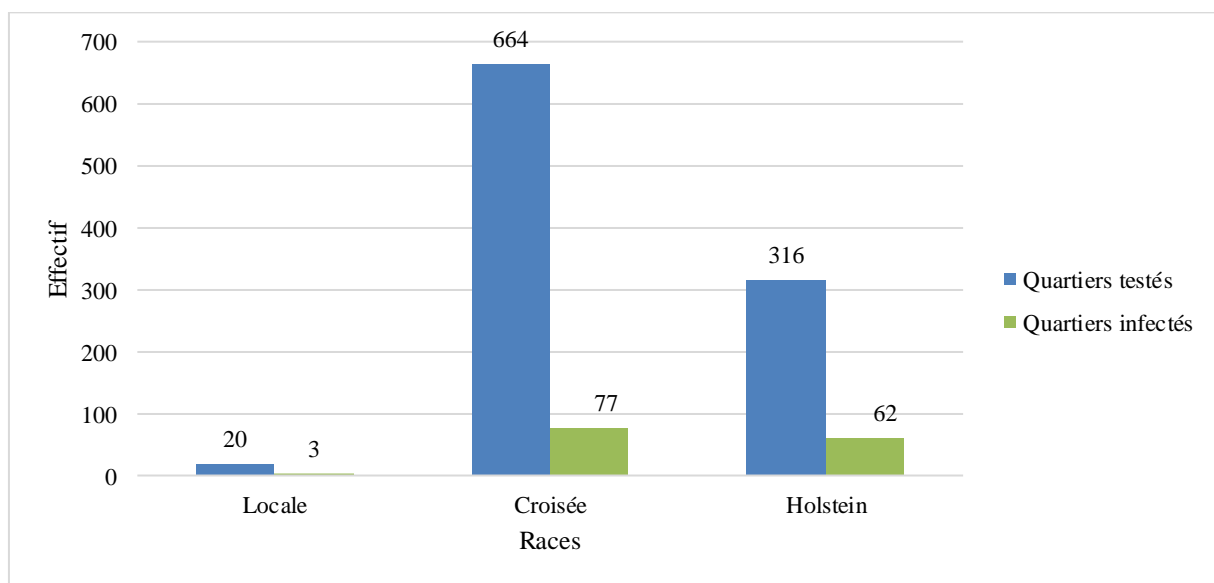
Selon Moges et *al.*, (2012), la prévalence de la mammite subclinique était élevée dans toutes les races. En outre Kurjogi et *al.*, (2014) ont déclaré qu'il n'y a pas de relation significative entre la race de la vache et la mammite subclinique.

Cependant Radostits et *al.*, (2007) ont déclaré que les vaches à haut rendement sont plus sensibles à la mammite que celles à faible rendement. Cela peut être dû à la facilité avec laquelle des blessures sont subies dans les grandes mamelles, de sorte que les foyers pour l'entrée des agents pathogènes sont créés et le stress associé à un rendement élevé du lait peut perturber le système de défense de l'animal.

L'influence de la race sur la prévalence de la mammite peut être attribuée à la différence de certaines caractéristiques physiologiques et anatomiques des glandes mammaires (Biffa et *al.*, 2005), qu'à des caractères héréditaires et l'immunité (Kurjogi et *al.*, 2014).

D'autres auteurs (Deگو et *al.*, 2003 ; Abdel-Rady et *al.*, 2009) ont constaté que les vaches, à rendement de lait relativement faible, sont génétiquement résistantes à l'infection intra mammaires, et sont plus adaptées à l'environnement et au climat que les vaches hautement productrices. De même dans la région de Tiaret en Algérie, Ghazi et *al.*, (2006) ont trouvé que les races locales sont plus résistantes par rapport à celles importées.

Dans notre région, la race importée Holstein a un rendement laitier faible par rapport à leur pays d'origine, et elle rencontre beaucoup plus de problèmes sanitaires. Cela est principalement dû à la résistance génétique (Payne et Wilson 1999 ; De Vlieghe et *al.*, 2012), et aussi à la mauvaise adaptation de ces vaches à l'environnement local et au climat.



**Figure 27. La relation entre les quartiers infectés et la race**

Aucune différence statistiquement significative n'a été observée chez les races de la prévalence des micro-organismes. Chez la race croisée 77(11,60%) quartiers infectés par les staphylocoques tandis que 62(19,62%) quartiers chez la race importée (Figure 27).

Ce résultat a été probablement lié à la similitude dans l'environnement et les méthodes d'élevage ; ce qui a été observé par l'étude de (Harouna et *al.*, 2009).

Des études plus poussées sont nécessaires pour évaluer la différence de race et, pour faire la lumière sur les taux d'infection entre les races locales et importées.

### **III.4.3 La relation entre les Staphylocoques isolés de la mammitte subclinique et le rang de lactation**

Dans la présente étude, la fréquence des infections mammaires par les Staphylocoques augmente que ce soit pour les primipares ou pour les multipares ; ce qui est représenté dans le Tableau 29.

Ceci pourrait être expliqué par, la négligence des cas de mammites subcliniques, tout en les laissant se développer davantage. Selon Rakotozandrindrainy *et al.*, (2007) et Saidi *et al.*, (2010), les multipares sont plus affectées par les mammites que les primipares.

Selon Waage *et al.*, (1999) la proportion de *S. aureus* ne différait pas entre les vaches pré-partum et les post-partum. *S. aureus* est un organisme contagieux, et le transfert pendant la traite est considéré comme un mécanisme important pour la propagation de cet organisme d'une vache à l'autre (Bramley *et al.*, 1984). Une étude de Roberson *et al.*, (1998) a suggéré que le lait des vaches infectées dans les troupeaux était la source la plus probable pour l'infections intra mammaires à *S. aureus* chez les génisses. *S. aureus* peut être rencontré à tout moment de la lactation ; ce qui tend à prouver que l'infection s'étend des quartiers infectés vers les quartiers sains lors de la traite (Guerin, 1998).

Les staphylocoques à coagulase négative ont isolé à partir de la mamelle des vaches vides, en gestation, ou fraîchement vélées (Trinidad *et al.*, 1990 ; Aarestrup *et al.*, 1997 ; De Vliegher *et al.*, 2003). Cela signifie que les staphylocoques à coagulase négative sont importants chez les vaches de tous âges (Taponen *et al.*, 2006).

**Tableau 29. La relation entre les Staphylocoques isolés et le rang de lactation**

Espèces	Rang								Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	
<i>S.xylosus</i>	2	1	2	3	1	1	0	1	11
<i>S.hominis</i>	0	1	4	0	0	0	1	0	6
<i>S.caprae</i>	2	2	0	0	1	0	0	1	6
<i>S.intermedius</i>	2	1	2	0	0	1	0	0	6
<i>S.auricularis</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	2
<i>S.aureus</i>	2	2	3	3	1	2	1	7	21
<i>S.chromogenes</i>	1	1	1	1	0	1	0	0	5
<i>S.simulans</i>	0	1	1	1	0	0	0	0	3
<i>S.scuri</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>S.epidermis</i>	1	1	1	2	0	1	0	0	6
<i>S.warneri</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	2
<i>S.capitis</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	2
<i>S.hemolyticus</i>	3	0	0	1	0	0	1	0	5
<i>S.hyicus</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	2
<i>S.lentus</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	2
Total	16	15	15	12	3	7	3	9	80

Les infections chroniques à *S. aureus* sont fréquentes et susceptibles de se reproduire dans les lactations ultérieures (Almaw *et al.*, 2008, Aphis 2008 et Haftu *et al.*, 2012). Ceci est dû à

l'exposition continue à la pression infectieuse au cours des différentes lactations et à la baisse des défenses naturelles au niveau de la glande mammaire des vaches âgées (Badinad 2003).

### III.4.4 La prévalence de la mammite subclinique, en relation avec le stade de la lactation et de la parité par rapport à la race

Dans la présente étude, il existe une dépendance entre la survenue de la mammite subclinique, le stade de lactation ( $p < 0,001$ ) et le vêlage ( $p = 0,041$ ) chez les vaches de race croisée (Tableau 30), et de la zone de prélèvement (Tableau 31).

**Tableau 30. La prévalence de la mammite subclinique, en relation avec le stade de la lactation et de la parité par rapport à la race**

Races	Facteurs	Examinés	Mammite subclinique		$\chi^2$	ddl	p
			N	%			
Locale	Début	0	0	0,0			
	Milieu	1	1	33,3			
	Fin	4	2	66,7			
Croisée	Début	12	9	10,7	16,744	2	<0,001
	Milieu	87	31	36,9			
	Fin	67	44	52,4			
Holstein	Début	9	7	14,9	3,427	2	0,180
	Milieu	33	16	34,0			
	Fin	37	24	51,1			
Locale	Primipare	0	0	0,0			
	Multipare	5	3	100,0			
Croisée	Primipare	21	15	17,9	4,172	1	0,041
	Multipare	145	69	82,1			
Holstein	Primipare	18	8	17,0	2,191	1	0,139
	Multipare	61	39	83,0			

D'après Biffa et *al.*, (2005), le stade de lactation affecte la prévalence de la mammite significativement ( $P < 0,001$ ). Un stade précoce et la période de l'involution des glandes mammaires ont été les stades les plus sensibles, et plus bas pour les vaches au milieu de lactation.

Un résultat similaire a été observé par Bitew et *al.*, (2010) en Ethiopie et, qui a montré une infection significativement plus élevée ( $p < 0,05$ ) chez les vaches avec les stades de lactation précoces et tardives que les vaches de stade de lactation moyen chez les races croisées. Il y avait une différence significative dans la prévalence de la mammite chez les vaches avec le numéro de parité différente ( $p < 0,05$ ). Les mêmes résultats ont été signalés par les études de Corbett (2009) et Lakshmi et *al.*, (2009).

Elbably et *al.*, (2013), ont montré que le stade de la lactation a un effet très significatif sur la prévalence de la mammite au ( $p < 0,003$ ).

---

Cela peut être dû à une absence de thérapie de période sèche et influences de la mise bas (Abera *et al.*, 2010). La mamelle est plus sensible à la mammite subclinique pendant la période après la mise bas (Abrahmsen *et al.*, 2014).

L'absence du traitement de tarissement des vaches pourrait être parmi les principaux facteurs contribuant à la prévalence élevée au début de la lactation. Au cours de la période sèche en raison de la faible qualité bactéricide et bactériostatique du lait, les agents pathogènes peuvent facilement pénétrer dans le canal du trayon et se multiplier ; cela peut être reproduit à la période après vêlage (Biffa *et al.*, 2005).

En Irlande, Berry *et al.*, (2005), ont expliqué que la prévalence accrue de la mammite à un stade précoce de la lactation peut être attribuée à des changements à la fois dans les mécanismes de défense de l'hôte et aux mécanismes non spécifiques de défense de l'hôte en période peripartum chez la vache laitière.

Selon autres études (Mungube *et al.*, 2004 ; Getahun *et al.*, 2008 ; Almaw *et al.*, 2008) en Ethiopie, et en Inde (Sudhan *et al.*, 2005), les quartiers de vaches, en fin de lactation, étaient plus susceptibles d'être infectés par la mammite subclinique par rapport aux quartiers de vaches en début de lactation.

Les résultats de cette étude sont d'accord avec les résultats de la recherche de Busato *et al.*, (2000) ainsi qu'aux de Moges *et al.*, (2012), qui ont constaté que les risques de la mammite subclinique augmentent de façon significative chez les multipares.

#### **III.4.5 L'association entre la prévalence de la bactériologie positive et les divers facteurs de risque**

Dans la présente étude le résultat de la bactériologie dépend du stade de lactation, de la race et de la saison avec des p de (0,031, 0,017, 0,005) respectivement (Tableau 31).

Selon Guerin *et al.*, (2007), pour *S. aureus* et les staphylocoques à coagulase négative, les nouvelles infections surviennent essentiellement dans les premières semaines de la lactation et pendant le début de la période sèche.

La période du tarissement a été rapportée pour inhiber l'action phagocytaire des neutrophiles dans la mamelle et, pendant la période sèche, la capacité des quartiers à fournir les activités phagocytaires et bactéricides est diminuée, conduisant à un fort taux d'infection (Sori *et al.*, 2005).

L'isolement de *S. aureus* dans le début de la lactation chez les vaches allaitantes augmente considérablement le risque de mammite subclinique pendant la première lactation (Compton *et al.*, 2007b ; Paradis *et al.*, 2010 ; Piepers *et al.*, 2010).

La saison aussi influence la fréquence des infections mammaires, suite à l'augmentation considérable de la température (Rakotozandrindrainy *et al.*, 2007).

### III.4.6 L'analyse de la régression logistique univariée et multivariée de la prévalence des facteurs de risque de la mammite subclinique

Malgré une valeur de 1,737 du rapport des côtes (OR), l'intervalle de confiance n'exclut pas la valeur 1 ; alors on ne peut infirmer le risque causé par le début du stade de lactation comparé à la fin. Par ailleurs, une valeur de 0,357 avec un  $p < 0,001$  indique que la vache est loin d'être atteinte d'une mammite subclinique en période du stade de lactation (facteur préventif).

**Tableau 31. L'association entre la prévalence de la mammite subclinique, la bactériologie positive et les divers facteurs de risque**

		Bactériologie positive			Mammite subclinique						
		N	%	$\chi^2$	ddl	p	N	%	$\chi^2$	ddl	p
Age de l'animal	1-4	55	59,78	0,474	2	0,789 <sup>NS</sup>	77	57,46	2,778	2	0,249 <sup>NS</sup>
	5-8	30	32,61				46	34,33			
	≥9	7	7,61				11	8,21			
Rang de Lactation	1	17	18,48	4,592	7	0,710 <sup>NS</sup>	23	17,16	6,529	7	0,480 <sup>NS</sup>
	2	23	25,00				34	25,37			
	3	17	18,48				22	16,42			
	4	13	14,13				19	14,18			
	5	6	6,52				14	10,45			
	6	7	7,61				9	6,72			
	7	3	3,26				4	2,99			
	8	6	6,52				9	6,72			
Stade de Lactation	Début	11	11,96	6,976	2	0,031*	16	11,94	19,212	2	<0,001***
	Milieu	35	38,04				48	35,82			
	Fin	46	50,00				70	52,24			
Race de la vache	Locale	2	2,17	8,035	2	0,017*	3	2,24	1,844	2	0,432 <sup>NS</sup>
	Croisé	51	55,43				84	62,69			
	Holstein	39	42,39				47	35,07			
Saison	Automne	15	16,30	10,732	2	0,005**	21	15,67	3,568	2	0,168 <sup>NS</sup>
	Hiver	0	,00				0	,00			
	Printemps	28	30,43				51	38,06			
	Été	49	53,26				62	46,27			
Vêlage	Primipare	17	18,48	0,916	1	0,339 <sup>NS</sup>	23	17,16	0,537	1	0,464 <sup>NS</sup>
	Multipare	75	81,52				111	82,84			
Zone de prélèvement	Nord	15	16,30	6,978	3	0,073 <sup>NS</sup>	28	20,90	8,157	3	0,043*
	Sud	23	25,00				28	20,90			
	Est	28	30,43				37	27,61			
	Ouest	26	28,26				41	30,60			

NS: Non significatif; \*: Significatif; \*\*: heuement significatif; \*\*\*: fortement significatif; N: Effectif; %: pourcentage;  $\chi^2$ : valeur de chi deux; ddl: degree of freedom; p: signification.

En comparant les zones de prélèvement on peut dire que la zone ouest peut être considérée comme indicateur de risque comparée à la zone nord ; alors que les deux autres zones ne le sont pas. Finalement en combinat les deux facteurs, c'est-à-dire en prenant en considération à la fois,

le stade de lactation et la zone de prélèvement le risque de la zone ouest n'est plus significatif ( $p=0,07$ ), alors que le milieu du stade de lactation persiste comme une phase hors risque.

**Tableau 32. L'analyse de la régression logistique univariée et multivariée de la prévalence des facteurs de risque de la mammite subclinique**

Facteurs favorisants	Mammite subclinique	Analyse univariée						Analyse multivariée			
		N	%	p	OR	IC 95%		p	OR <sub>adj</sub>	IC 95%	
						BI	BS			BI	BS
Stade de Lactation	Début	16	11,94	0,316	1,737	0,590	5,110	0,329	1,725	0,578	5,151
	Milieu	48	35,82	<0,001	0,357	0,209	0,611	<0,001	0,376	0,218	0,647
	Fin <sup>a</sup>	70	52,24	<0,001				<0,001			
Constante				0,002	1,842						
Zone de prélèvement	Nord <sup>a</sup>	28	20,90	0,045				0,123			
	Sud	28	20,90	0,936	1,029	0,509	2,084	0,888	0,949	0,456	1,974
	Est	37	27,61	0,090	1,850	0,909	3,764	0,160	1,694	0,812	3,532
	Ouest	41	30,60	0,021	2,330	1,136	4,775	0,070	1,990	0,945	4,193
Constante				0,379	0,800			0,330	1,350		

a : catégorie de référence ; OR : rapport des cotes ; IC 95% : intervalle de confiance à 95% ; BI: borne inférieure ; BS: Borne supérieure ; p : signification ; N : effectif ; % : pourcentage.



---

## Conclusion et perspective

Les mammites restent une dominante pathologique chez la vache laitière. Cette première étude, sur la mammite bovine dans la région de Sidi-Bel-Abbes, nous a permis d'évaluer la prévalence des mammites subcliniques bovines dans les exploitations laitières.

La connaissance précise des agents pathogènes de la mammite permet l'utilisation de mesures de contrôle appropriées pour améliorer l'état de santé du pis des vaches laitières. Ceci est un élément essentiel des conditions d'une amélioration qualitative et quantitative de la production laitière. La combinaison du test CMT et de la bactériologie donne une image précise de l'état infectieux du pis de la vache et, doit être effectuée chaque fois que possible.

Plus d'efforts sont nécessaires pour améliorer la santé générale de la mamelle dans les troupeaux laitiers de notre région vu que 33,6% des quartiers avaient un test CMT positif ou une infection sous-clinique. Cette forte prévalence de la mammite subclinique, dont l'impact sur la quantité et la qualité de la production de lait est avéré, ne doit pas être négligée.

L'identification biochimique a montré que 73,75% des isolats sont des staphylocoques à coagulase négatifs et que 26,25 % sont des *S. aureus*. La présence de *S. aureus* dans le lait cru a montré que la consommation du lait cru pourrait être un risque potentiel d'infection d'origine alimentaire.

L'évaluation de la fréquence de résistance aux antibiotiques d'intérêt thérapeutique vétérinaire de souche de staphylocoques isolés a montré l'existence d'un niveau alarmant de la résistance contre les agents antimicrobiens couramment utilisés dans les fermes de la région ouest de l'Algérie. En général nos isolats de Staphylocoques ont montré un niveau élevé de résistance particulièrement à la pénicilline et à la Tétracycline, avec (80,95 % et 71,43 %), (61,02 % et 74,58%) pour *S. aureus* et les Staphylocoques à coagulase négatifs respectivement.

Les profils de sensibilité aux antimicrobiens devraient être identifiés pour les Staphylocoques, les données de susceptibilité actuelles sont nécessaires pour sélectionner les antibiotiques appropriés pour un traitement réussi. La haute résistance à la pénicilline et à la tétracycline souligne l'importance de l'identification des Staphylocoques lorsqu'une infection intra mammaire est présente devrait être examinée avec soin pour le contrôle de la mammite et, pour éviter leur utilisation inutile.

Les résultats de cette étude ont montré une prévalence des Staphylocoques coagulase négatifs par rapport aux *S. aureus*, malgré le pouvoir pathogène méconnu de certaines espèces ; ces organismes peuvent être des réservoirs de résistance aux antibiotiques ; ce qui nécessite une surveillance périodique de la résistance des Staphylocoques aux antimicrobiens dans le but

---

de contrôler leurs propagations. Cette surveillance continue pourrait être utile de traiter plus efficacement les infections, et de prévenir dans le futur le passage dans le lait cru et les produits laitiers des germes nocifs pour la santé et la sécurité du consommateur.

Ce résultat indique la nécessité d'une enquête plus approfondie de l'épidémiologie de la résistance contre ces agents antimicrobiens chez les Staphylocoques isolés à partir des glandes mammaires bovines.

Il est intéressant de noter que la présente étude a révélé une susceptibilité complète (100%) des souches de *S. aureus* à de nombreux antibiotiques, y compris le triméthoprime-sulfaméthoxazole, la gentamycine, la céfoxitine et la bacitracine.

Les CMI pour les souches de *S.aureus* ont été déterminées par le système VITEK 2, et 02 isolats de *S.aureus* sont des SARM. Bien que la vancomycine soit le choix le plus fiable pour contrôler les souches de SARM, ces derniers sont devenus résistants à la vancomycine et se font ainsi difficilement contrôlables. Peu d'études ont signalé la résistance à la vancomycine de *S. aureus* dans la mammite bovine en Algérie. Ces résultats ont révélé, pour la première fois, des souches animales identifiées avec ce profil d'antibiorésistance dans la région de Sidi-Bel-Abbés.

Les résultats de l'étude pointent vers un besoin de surveillance des 02 souches h-VISA et VRSA trouvées, et de développer les tests de laboratoire ou des stratégies dans son diagnostic dans la routine de la microbiologie clinique et, que la charge et l'impact clinique devraient être étroitement et continuellement surveillés.

Les analyses de la biologie moléculaire ont permis de déterminer la présence des gènes de virulences. La majorité des souches de *S. aureus* isolées dans cette étude sont des souches porteuses de gènes *coa* et *nuc* codant pour la coagulase et la thermonucléase. Notre recherche représente la première étude portant sur les gènes de virulence ; une meilleure connaissance des facteurs de virulence permettra de mettre en place de meilleures mesures de gestion du *S. aureus* dans les fermes laitières.

L'évaluation de la résistance aux antimicrobiens dans les troupeaux laitiers, les pratiques de gestion globale pour le traitement et la manipulation de *S. aureus* chez les animaux infectés, plutôt que l'utilisation uniques des antimicrobiens, devraient être pris en considération.

La détermination des facteurs de risque associés à une grande importance, tant pour le choix du traitement des animaux atteints que pour l'élaboration de mesures efficaces contre les facteurs de risque. Le stade de traite des vaches laitières avec des mammites et l'histoire de la mammite précédente se sont révélés être des facteurs de risque significativement liés à la prévalence de la mammite.

---

Toutefois, d'autres recherches sont nécessaires pour étudier la prévalence de la mammite subclinique à Sidi-Bel-Abbès afin d'obtenir une image plus complète de la situation de la mammite actuelle.

Les résultats suggèrent également qu'il est important de faire un travail de prévention dans les fermes, afin de réduire la prévalence de la mammite subclinique. Pour cela, les limites de cette étude nous conduisent à apporter un certain nombre de recommandations par la réponse aux questions suivantes :

La méthode du prélèvement bactériologique est-elle importante ?

Le diagnostic de la mammite subclinique peut être coûteux, surtout si des échantillons de lait de quartiers sont utilisés. Une alternative à l'échantillonnage du lait de quartier est de recueillir des échantillons composites de vaches. Cela permet d'économiser les coûts ; mais le risque de contamination est plus grand et, il y a un risque de perte de sensibilité dû à la dilution du lait.

Comment lutter contre l'antibiorésistance ?

- Éviter la baisse d'efficacité des molécules antibiotiques et l'apparition de souches de bactéries résistantes :

- Par le recours limité ;
- Le respect des prescriptions vétérinaires (durée, dose) ;
- le choix des molécules utilisées.

- Généraliser de l'informatisation des activités d'élevage et de la clinique vétérinaire pour conserver de manière durable les informations et faciliter leur exploitation ;

- Associer la surveillance de la résistance et l'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire en appliquant l'antibiogramme comme une étape indispensable pour une antibiothérapie adéquate ;

- Intervenir sur les pratiques vétérinaires et les approches zootechniques ;

- Développer, par les praticiens vétérinaires, des règles d'intervention plus strictes d'utilisation des antibiotiques, par l'information et la formation des utilisateurs des antibiotiques ;

- Former des vétérinaires en matière de santé publique et de gestion sanitaire des troupeaux.

La formation des éleveurs, est-elle un outil d'appui à la gestion zootechnique en élevage ?

Informers les éleveurs et les sensibiliser autour de la mammite subclinique restent l'objectif majeur :

- En contrôlant les facteurs suivants :

-La désinfection des trayons avant et après la traite en faisant une attention particulière à l'orifice du trayon ;

-la traite manuelle complète ;

- Une bonne hygiène et le suivi des procédures et des équipements de traite adéquats ;

-L'identification des vaches avec des concentrations cellulaires somatiques élevées afin de les séparer des vaches saines, en généralisant l'utilisation des tests de dépistage comme le test CMT ;

-Les animaux avec des mammites doivent être isolés et trait séparément. Dans le cas contraire, les animaux infectés doivent être traités après les non-infectés.

• Et en évitant :

- L'automédication ;

- La traite favorisant la contagion (mains, lavettes, manchons) ;

- Les trayons crevassés ;

- Le tarissement mal conduit, le traitement préventif au tarissement insuffisant et la période sèche longue ;

- Les réformes tardives ;

-La stabulation longue ;

- Les défauts d'hygiène du logement (surface, ventilation, pentes) ;

-L'aire de couchage contaminée (t°, humidité, circulation) ;

- La consommation de lait non pasteurisé.

---

## Références bibliographiques

### A

Aarestrup, F. M., Larsen, H. D., & Jensen, N. E. 1999. Characterization of *Staphylococcus simulans* strains isolated from cases of bovine mastitis. *Veterinary microbiology*, 66(2): 165-170.

Abbas, B. A., Khudor, M. H., & Hanoon, B. M. 2014. Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from bovine and the detection of its coagulase gene (coa) using polymerase chain reaction (PCR). *Scientific Research and Essays*, 9(20): 864-868.

Abdeen, E. E., Walid, M., Hussien, H., & Roshdy, S. 2015. PCR for detection of virulence and antibiotic resistance genes of coagulase positive *staphylococcus aureus* from clinical mastitis in Egypt. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(3): 315.

Abdel-Rady, A., & Sayed, M. 2009. Epidemiological studies on subclinical mastitis in dairy cows in Assiut Governorate. *Veterinary World*, 2(10): 373-380.

Abera, M., Demie, B., Aragaw, K., Regassa, F., & Regassa, A. 2010. Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitic milk and their drug resistance patterns in Adama town, Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 2(3): 29-34.

Abrahmsén, M., Persson, Y., Kanyima, B. M., & Båge, R. 2014. Prevalence of subclinical mastitis in dairy farms in urban and peri-urban areas of Kampala, Uganda. *Tropical animal health and production*, 46(1): 99-105.

Aggad, H., Mahouz, F., Ahmed Ammar, Y., & Kihal, M. 2009. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Rev Méd Vét*, 160: 590-595.

Aitken, S. L., Corl, C. M., & Sordillo, L. M. 2011. Immunopathology of mastitis: insights into disease recognition and resolution. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 16(4): 291-304.

Akers, R. M., & Nickerson, S. C. 2011. Mastitis and its impact on structure and function in the ruminant mammary gland. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 16(4): 275-289.

Alanis, A. J. 2005. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? *Archives of medical research*, 36(6): 697-705.

Ali, R., Al-Achkar, K., Al-Mariri, A., & Safi, M. 2014. Role of Polymerase Chain Reaction (PCR) in the detection of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 15(3): 293-298.

---

Almaw, G., Zerihun, A., & Asfaw, Y. 2008. Bovine mastitis and its association with selected risk factors in smallholder dairy farms in and around Bahir Dar, Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 40(6): 427-432.

Amellal, R. 2000. La filière lait en Algérie: entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de la dépendance. *Les agricultures maghrébines à l'aube de l'an 2000*, B(14): 229-238.

Amstalden, M., & Williams, G. L. 2015. Neuroendocrine Control of Estrus and Ovulation. *Bovine Reproduction*: 203-218.

Andrews, A. H., Blowey, R., Boyd, H., & Eddy, R. 2008. *Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle*: John Wiley & Sons.

Angulo, F. J., LeJeune, J. T., & Rajala-Schultz, P. J. 2009. Unpasteurized milk: a continued public health threat. *Clinical Infectious Diseases*, 48(1): 93-100.

Aphis, U. 2008. Prevalence of contagious mastitis pathogens on US dairy operations, 2007. Fort Collins, Colo: USDA Aphis Veterinary Services Centers for Epidemiology and Animal Health.

Archer, S. C., Mc Coy, F., Wapenaar, W., & Green, M. J. 2013. Association between somatic cell count early in the first lactation and the longevity of Irish dairy cows. *Journal of dairy science*, 96(5): 2939-2950.

Arslan, E., Celebi, A., Acik, L., & Ucan, U. S. 2009. Characterisation of coagulase positive *Staphylococcus* species isolated from bovine mastitis using protein and plasmid patterns. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 33(6): 493-500.

Aslantaş, Ö., Demir, C., TürütoğLu, H., Cantekin, Z., Ergün, Y., & Doğruer, G. 2007. Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 31(4): 253-257.

Attia, E., El-Rashidy, A. A., & Metias, K. 2003. Comparative study between electrical conductivity, California mastitis test and somatic cell count for rapid diagnosis of subclinical mastitis in lactating cows. Paper presented at the Proceedings of the 7th Scientific Congress, Egyptian Society for Cattle Diseases. 25-26.

Auckenthaler, R, 1999. Activité antibactérienne, spectre, mode d'action et cibles bactériennes. Dans Bergogne-Bérézin, E. et P. Dellamonica. *Antibiothérapie en pratique clinique*. Masson, Paris. 17-32.

Auldish, M. 2011. Milk Quality and Udder Health | Effect on Processing Characteristics, *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier BV. 902-907.

## B

---

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

Bakir, M., Sabrina, R., & Toufik, M. 2011. Antibacterial susceptibility profiles of sub-clinical mastitis pathogens isolated from cows in Batna and Setif Governorates (East of Algeria). *Veterinary World*, 4(12): 537-541.

Bannerman, D. D., Paape, M. J., Lee, J.-W., Zhao, X., Hope, J. C., & Rainard, P. 2004. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* elicit differential innate immune responses following intramammary infection. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 11(3): 463-472.

Bannerman, T.L., & Peacock, S.J. 2007. *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci* : Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM Press, 1: 390-411.

Bebell, L. M., & Muiru, A. N. 2014. Antibiotic use and emerging resistance: how can resource-limited countries turn the tide? *Global heart*, 9(3): 347-358.

Ben Hassen, S., Messadi, L., & BEN ASSEN, A. 2003. Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite. Paper presented at the *Annales de médecine vétérinaire*.

Benchelah, A.-C., & Maka, M. 2008. Les dattes: intérêt en nutrition. *Phytothérapie*, 6(2): 117-121.

Bendahou, A., Lebbadi, M., Ennane, L., Essadqui, F. Z., & Abid, M. 2008. Characterization of *Staphylococcus* species isolated from raw milk and milk products (lben and jben) in North Morocco. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 2(03): 218-225.

Bendixen, P., Vilson, B., Ekesbo, I., & Åstrand, D. 1988. Disease frequencies in dairy cows in Sweden. v. mastitis. *Preventive veterinary medicine*, 5(4): 263-274.

Benhamed, N., & Kihal, M. 2011. Prevalence of Mastitis Infection and Identification of Causing Bacteria in Cattle in the Oran Region West Algeria. *Proteus*, 2(15): 38.

Benyagoub, E., & Mohammed, A. 2014. Hazard analysis and testing for implemented a HACCP system at a dairy factory in South West Algeria. *Food Science and Quality Management*, 32:57-66.

Berry, D. P., & Meaney, W. J. 2005. Cow factors affecting the risk of clinical mastitis. *Irish journal of agricultural and food research*: 147-156.

Bhutto, A., Murray, R., & Woldehiwet, Z. 2012. California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. *Research in veterinary science*, 92(1): 13-17.

Biffa, D., Debela, E., & Beyene, F. 2005. Prevalence and risk factors of mastitis in lactating dairy cows in Southern Ethiopia. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 3(3): 189-198.

Bitew, M., Tafere, A., & Tolosa, T. 2010. Study on bovine mastitis in dairy farms of Bahir Dar and its environs. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(23): 2912-2917.

Blowey, R. W., & Edmondson, P. 2010. *Mastitis control in dairy herds*: Cabi.

Bludau, M. J., Maeschli, A., Leiber, F., Steiner, A., & Klocke, P. 2014. Mastitis in dairy heifers: Prevalence and risk factors. *The Veterinary Journal*, 202(3): 566-572.

Boerlin, P., Kuhnert, P., Hüsey, D., & Schaellibaum, M. 2003. Methods for identification of *Staphylococcus aureus* isolates in cases of bovine mastitis. *Journal of clinical microbiology*, 41(2): 767-771.

Botrel, M.-A., Haenni, M., Morignat, E., Sulpice, P., Madec, J.-Y., & Calavas, D. 2010. Distribution and antimicrobial resistance of clinical and subclinical mastitis pathogens in dairy cows in Rhône-Alpes, France. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(5): 479-487.

Bourbouze, A. 2001. *Le développement des filières lait au Maghreb–Algérie, Maroc, Tunisie: trois images, trois stratégies différentes*: Agroligne.

Boutet, P., Bureau, F., & Lekeux, P. 2006. *La mammite bovine: de l'initiation à la résolution*. Paper presented at the *Annales de Médecine Vétérinaire*.

Bradley, A., & Green, M. 2000. A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. *Journal of dairy science*, 83(9): 1957-1965.

Bradley, A., & Green, M. 2001. Adaptation of *Escherichia coli* to the bovine mammary gland. *Journal of clinical microbiology*, 39(5): 1845-1849.

Bradley, A. J. 2002. Bovine mastitis: an evolving disease. *The Veterinary Journal*, 164(2): 116-128.

Brakstad, O. G., Aasbakk, K., & Maeland, J. A. 1992. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. *Journal of clinical microbiology*, 30(7): 1654-1660.

Bramley, A. J., & Dodd, F. H. 1984. Reviews of the progress of dairy science: mastitis control—progress and prospects. *Journal of dairy research*, 51(03): 481-512.

Brandt, M., Haeussermann, A., & Hartung, E. 2010. Invited review: Technical solutions for analysis of milk constituents and abnormal milk. *Journal of dairy science*, 93(2): 427-436.



---

Burgess, K., & Griffiths, M. 2010. Key requirements for milk quality and safety: a processor's perspective. Improving the safety and quality of milk. Volume 1: Milk production and processing: 64-84.

Busato, A., Trachsel, P., Schällibaum, M., & Blum, J. 2000. Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. Preventive veterinary medicine, 44(3): 205-220.

Butaye, P., van Duijkeren, E., Prescott, J. F., & Schwarz, S. 2014. Antimicrobial resistance in bacteria from animals and the environment. Veterinary microbiology, 3(171): 269-272.

### C

Capurro, A., Artursson, K., Waller, K. P., Bengtsson, B., Ericsson-Unnerstad, H., & Aspán, A. 2009. Comparison of a commercialized phenotyping system, antimicrobial susceptibility testing, and *tuf* gene sequence-based genotyping for species-level identification of coagulase-negative staphylococci isolated from cases of bovine mastitis. Veterinary microbiology, 134(3): 327-333.

Carl, A. B. 2014. Staphylococcus in: encyclopedia of food microbiology, 3:482-501

Carle, S. 2009. La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important! Pharmactuel, 42.

Caron, F. 2012. L'antibiogramme: un quadruple outil pour le clinicien. Journal des Antibiologiques, 14(4): 168-174.

Carrillo-Casas, E., & Miranda-Morales, R. E. 2012. Bovine mastitis pathogens: prevalence and effects on somatic cell count. Milk production—an up to-date overview of animal nutrition, management and health. INTECH, New York: 359-374.

Castagliuolo, I., Piccinini, R., Beggiao, E., Palù, G., Mengoli, C., Ditadi, F., Vicenzoni, G., & Zecconi, A. 2006. Mucosal genetic immunization against four adhesins protects against Staphylococcus aureus-induced mastitis in mice. Vaccine, 24(20): 4393-4402.

Cavallo, J.-D., & Mérens, A. 2008. Spectre d'activité antibactérien d'un antibiotique et catégorisation clinique. Pathologie Biologie, 56(5): 300-304.

Cazeau, G., Chazel, M., Jarrige, N., Sala, C., Calavas, D., & Gay, E. 2010. Utilisation des antibiotiques par les éleveurs en filière bovine en France. 17ème journées, 3: 08-09.

Chancey, S. T., Zähler, D., & Stephens, D. S. 2012. Acquired inducible antimicrobial resistance in Gram-positive bacteria. Future microbiology, 7(8): 959-978.

Chaneton, L., Sáez, J. P., & Bussmann, L. 2011. Antimicrobial activity of bovine  $\beta$ -lactoglobulin against mastitis-causing bacteria. Journal of dairy science, 94(1): 138-145.

---

Chaneton, L., Tirante, L., Maito, J., Chaves, J., & Bussmann, L. 2008. Relationship between milk lactoferrin and etiological agent in the mastitic bovine mammary gland. *Journal of dairy science*, 91(5): 1865-1873.

Chaudhari, C., Tandel, K., Grover, N., Sen, S., Bhatt, P., Sahni, A., & Praharaj, A. 2015. Heterogeneous vancomycin-intermediate among methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *medical journal armed forces india*, 71(1): 15-18.

Chen, Q., Andersson, A., Mecklenburg, M., & Xie, B. 2015. A biosensing strategy for the rapid detection and classification of antibiotic resistance. *Biosensors and Bioelectronics*, 73: 251-255.

Chougule, M., Gandge, R., Bannalika, A., Majee, S., & Pharande, R. 2014. Characterization of *Staphylococcus aureus* associated with bovine mastitis. *Indian Journal of Dairy Science*, 67(6).

Çitak, S., Varlik, Ö., & Gündoğan, N. 2003. Slime production and DNase activity of staphylococci isolated from raw milk. *Journal of food safety*, 23(4): 281-288.

Claeys, W. L., Cardoen, S., Daube, G., De Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., De Zutter, L., Huyghebaert, A., Imberechts, H., & Thiange, P. 2013. Raw or heated cow milk consumption: review of risks and benefits. *Food Control*, 31(1): 251-262.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2008. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; Approved standard, 3rd ed , M31-A3; CLSI: Wayne, PA, USA.

Cockcroft ,P. D. 2015 .Bovine medicine, Third Edition, John Wiley & Sons:143

Coelho, M. L. V., dos Santos Nascimento, J., Fagundes, P. C., Madureira, D. J., de Oliveira, S. S., de Paiva Brito, M. A. V., & de Freire Bastos, M. d. C. 2007. Activity of staphylococcal bacteriocins against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* involved in bovine mastitis. *Research in microbiology*, 158(7): 625-630.

Coelho, S. d. M. d. O., Pereira, I. A., Soares, L. d. C., Pribul, B. R., & Souza, M. M. S. d. 2011. Short communication: profile of virulence factors of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of dairy science*, 94(7): 3305-3310.

Collectif. 2008. Résistance des micro-organismes aux agents antibactériens. In *Le Manuel Vétérinaire Merck*. 3rd ed française, Edition d'Après, Paris : 2053–2054.

Compton, C., Heuer, C., Parker, K., & McDougall, S. 2007a. Epidemiology of mastitis in pasture-grazed peripartum dairy heifers and its effects on productivity. *Journal of dairy science*, 90(9): 4157-4170.

---

---

Compton, C., Heuer, C., Parker, K., & McDougall, S. 2007b. Risk factors for peripartum mastitis in pasture-grazed dairy heifers. *Journal of dairy science*, 90(9): 4171-4180.

Contreras, G. A., & Rodríguez, J. M. 2011. Mastitis: comparative etiology and epidemiology. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 16(4): 339-356.

Corbett, R. 2009. Minimizing the effects of immunosuppression through management and nutrition. Paper presented at the Proceedings of the 48th Annual Meeting of the NMC.

Coulona, J.-B., Gasquib, P., Barnouin, J., Ollier, A., Pradel, P., & Pomiès, D. 2002. Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows. *Animal Research*, 51(05): 383-393.

Cuny, C., Pasemann, B., & Witte, W. 1999. The ability of the Dry Spot Staphytest Plus test, in comparison with other tests, to identify *Staphylococcus* species, in particular *S. aureus*. *Clinical microbiology and infection*, 5(2): 114-116.

Curtis, G., & Sue. L. 2015. Coagulase-Negative *Staphylococci* and Their Role in Infection in : *Molecular Medical Microbiology Second Edition*, 2: 793–810.

#### D

D'Costa, V. M., King, C. E., Kalan, L., Morar, M., Sung, W. W., Schwarz, C., Froese, D., Zazula, G., Calmels, F., & Debruyne, R. 2011. Antibiotic resistance is ancient. *Nature*, 477(7365): 457-461.

Da Silva, E. R., & da Silva, N. 2005. Coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from cows with mastitis in southeastern Brazil. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 69(4): 260.

Daghistani, H. I., Issa, A. A., & Shehabi, A. A. 2000. Frequency of nasal and wound isolates of *Staphylococcus aureus* associated with TSST-1 production in Jordanian population. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 27(2): 95-98.

Dar, K., Ansari, M., Dar, S., Tantary, H., & Baba, M. 2014. Studies on subclinical mastitis in dairy cows of Jammu and Kashmir. *International Journal of Veterinary Science*, 3(2): 95-99.

Denis ,F., Ploy ,M.C., Martin, C., Bingen ,E., & Quentin ,R. 2011. Cocci à Gram positif dans in *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Editions Elsevier Masson, Paris : 287-299.

De Oliveira, A., Watts, J., Salmon, S., & Aarestrup, F. M. 2000. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Europe and the United States. *Journal of dairy science*, 83(4): 855-862.

De Vlieghe, S., Fox, L., Piepers, S., McDougall, S., & Barkema, H. 2012. Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *Journal of dairy science*, 95(3): 1025-1040.

---

---

De Vliegher, S., Laevens, H., Devriese, L., Opsomer, G., Leroy, J., Barkema, H., & de Kruif, A. 2003. Prepartum teat apex colonization with *Staphylococcus chromogenes* in dairy heifers is associated with low somatic cell count in early lactation. *Veterinary microbiology*, 92(3): 245-252.

De Vliegher, S., Opsomer, G., Vanrolleghem, A., Devriese, L., Sampimon, O., Sol, J., Barkema, H., Haesebrouck, F., & de Kruif, A. 2004. In vitro growth inhibition of major mastitis pathogens by *Staphylococcus chromogenes* originating from teat apices of dairy heifers. *Veterinary microbiology*, 101(3): 215-221.

Dego, O. K., & Tareke, F. 2003. Bovine mastitis in selected areas of southern Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 35(3): 197-205.

Deluyker, H., Van Oye, S., & Boucher, J. 2005. Factors affecting cure and somatic cell count after pirlimycin treatment of subclinical mastitis in lactating cows. *Journal of dairy science*, 88(2): 604-614.

Devriese, L., & Oeding, P. 1975. Coagulase and Heat-resistant Nuclease Producing *Staphylococcus epidermidis* Strains from Animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 39(2): 197-207.

Devriese, L., Schleifer, K., & Adegoke, G. 1985. Identification of coagulase-negative staphylococci from farm animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 58(1): 45-55.

Devriese, L. A., Vancanneyt, M., Baele, M., Vaneechoutte, M., De Graef, E., Snauwaert, C., Cleenwerck, I., Dawyndt, P., Swings, J., & Decostere, A. 2005. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(4): 1569-1573.

Dieser, S. A., Vissio, C., Lasagno, M. C., Bogni, C. I., Larriestra, A. J., & Odierno, L. M. 2014. Prevalence of pathogens causing subclinical mastitis in Argentinean dairy herds. *Pak Vet J*, 34: 124-126.

Du Preez, J. 2000. Bovine mastitis therapy and why it fails: continuing education. *Journal of the South African Veterinary Association*, 71(3): 201-208.

## E

Eberhart, R. 1986. Management of dry cows to reduce mastitis. *Journal of dairy science*, 69(6): 1721-1732.

El-Ashker, M., Gwida, M., Tomaso, H., Monecke, S., Ehricht, R., El-Gohary, F., & Hotzel, H. 2015. Staphylococci in cattle and buffaloes with mastitis in Dakahlia Governorate, Egypt. *Journal of dairy science*, 98(11): 7450-7459.

---

El Hassani, S. K. 2013. La Dépendance Alimentaire en Algérie: Importation de Lait en Poudre versus Production Locale, Quelle Evolution? *Mediterranean Journal of Social Sciences*, 4(11): 152.

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

Elmoslemany, A. M., Keefe, G., Dohoo, I., Wichtel, J., Stryhn, H., & Dingwell, R. 2010. The association between bulk tank milk analysis for raw milk quality and on-farm management practices. *Preventive veterinary medicine*, 95(1): 32-40.

El Seedy, F., El-Shabrawy, M., Hakim, A., Syame, S., & Osman, N. 2012. Advanced techniques used for isolation and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic buffaloes. *Global Veterinaria*, 8(2): 144-152.

Erganiş, O., Kuyucuoğlu, Y., & Ok, Ü. 1995. İnek Ve Koyun Mastitislerine Sebep Olan Koaguloz Negatif ve Koaguloz Pozitif Stafkokların Biyotiplendirilmesi. *Veterinarium*, 6(1-2): 23-27.

Erskine, R. J., Wagner, S., & DeGraves, F. J. 2003. Mastitis therapy and pharmacology. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 19(1): 109-138.

Ezzeldeen, N. A., Mansour, H. A., & Ahmed, A. A. 2011. Phenotypic and molecular identification of *Staphylococcus aureus* isolated from some Egyptian salted fish. *World Appl. Sci. J*, 15(12): 1703-1712.

## F

Faye, K. 2005. Le point sur l'usage vétérinaire des antibiotiques: impact sur l'antibiorésistance des bactéries en santé animale et humaine. *Antibiotiques*, 7(1): 45-52.

Felten, A., Grandry, B., Lagrange, P. H., & Casin, I. 2002. Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test. *Journal of clinical microbiology*, 40(8): 2766-2771.

Ferreira, A. M., Bislev, S. L., Bendixen, E., & Almeida, A. M. 2013. The mammary gland in domestic ruminants: a systems biology perspective. *Journal of proteomics*, 94: 110-123.

Forsgren, A. 1970. Significance of protein A production by staphylococci. *Infection and immunity*, 2(5): 672.

Fosgate, G. T., Petzer, I.-M., & Karzis, J. 2013. Sensitivity and specificity of a hand-held milk electrical conductivity meter compared to the California mastitis test for mastitis in dairy cattle. *The Veterinary Journal*, 196(1): 98-102.

---

Foster, T.J. & Geoghegan, J.A. . 2015. *Staphylococcus aureus*: Molecular Medical Microbiology , 2: 655–674

Fournier, C., Kuhnert, P., Frey, J., Miserez, R., Kirchhofer, M., Kaufmann, T., Steiner, A., & Graber, H. 2008. Bovine *Staphylococcus aureus*: association of virulence genes, genotypes and clinical outcome. *Research in veterinary science*, 85(3): 439-448.

Fournier, J., Boutonnier, A., & Bouvet, A. 1989. *Staphylococcus aureus* strains which are not identified by rapid agglutination methods are of capsular serotype 5. *Journal of clinical microbiology*, 27(6): 1372-1374.

Frandsen, R. D., Wilke, W. L., & Fails, A. D. 2009. *Anatomy and physiology of farm animals*: John Wiley & Sons.

French, G. 2010. The continuing crisis in antibiotic resistance. *International journal of antimicrobial agents*, 36: S3-S7.

## G

Gao, J., Ferreri, M., Liu, X. Q., Chen, L. B., Su, J. L., & Han, B. 2011. Development of multiplex polymerase chain reaction assay for rapid detection of *Staphylococcus aureus* and selected antibiotic resistance genes in bovine mastitic milk samples. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(5): 894-901.

Garbacz, K., Piechowicz, L., Wiśniewska, K., & Galiński, J. 2002. Characteristics of coagulase-negative and CF-negative methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Medycyna Doświadczalna*, 54(1): 7.

Garnier, F., Buruoa, C., & Lanotte, P. 2011. *Biologie moléculaire: application à la détection, à l'identification et au génotypage. Bactériologie médicale: techniques usuelles*. 2ème édition. F. Denis, MC Ploy, C. Martin, E. Bingen, R. Quentin: 43-63.

Getahun, K., Kelay, B., Bekana, M., & Lobago, F. 2008. Bovine mastitis and antibiotic resistance patterns in Selalle smallholder dairy farms, central Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 40(4): 261-268.

Gharib, A. A., Adel Attia, M., & Bendary, M. 2013. Detection of the Coa Gene in *Staphylococcus aureus* from different sources by polymerase chain reaction. *International Journal of Microbiological Research*, 4(1): 37-42.

Ghazi, K., & Niar, A. 2006. Incidence of mastitis in various bovine breedings in Tiaret area (Algeria). *Assiut Vet. Med. J*, 52: 198.

Gillespie, B., Headrick, S., Boonyayatra, S., & Oliver, S. 2009. Prevalence and persistence of coagulase-negative *Staphylococcus* species in three dairy research herds. *Veterinary microbiology*, 134(1): 65-72.

---

Gonçalves, J. L., Tomazi, T., Barreiro, J. R., Beuron, D. C., Arcari, M. A., Lee, S. H. I., Martins, C. M. d. M. R., Junior, J. P. A., & dos Santos, M. V. 2016. Effects of bovine subclinical mastitis caused by *Corynebacterium* spp. on somatic cell count, milk yield and composition by comparing contralateral quarters. *The Veterinary Journal*, 209: 87-92.

Gonzalez-Rodriguez, M., Gonzalo, C., San Primitivo, F., & Carmenes, P. 1995. Relationship Between Somatic Cell Count and Intramammary Infection of the Half Udder in Dairy Ewes. *Journal of dairy science*, 78(12): 2753-2759.

Gooraninejad, S., Ghorbanpoor, M., & Salati, A. P. 2007. Antibiotic susceptibility of staphylococci isolated from bovine subclinical mastitis. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 10(16): 2781-2783.

Graber, H., Pfister, S., Burgener, P., Boss, R., Meylan, M., & Hummerjohann, J. 2013. Bovine *Staphylococcus aureus*: diagnostic properties of specific media. *Research in veterinary science*, 95(1): 38-44.

Green, M., & Green, M. J. 2012. *Dairy herd health*: Cabi.

Greenwood, D., & Whitley, R. 2003. *Modes of action in Antibiotic and chemotherapy*. Churchill Livingstone, 8th edition: 11-14.

Guerin, P., & Guerin-Faublee, V. 2007. Les mammites de la vache laitière : 140

Guerin P. 1998. Mammites à Staphylocoques chez la vache : aspects épidémiologiques in : *Staphylocoques et santé publique*, Neuvièmes rencontres GTV Rhône-Alpes, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, 18 juin 1998 : 21.

Guillemot, D. 2006. Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. 214p: Rapport.

Güler, L., Ok, Ü., Gündüz, K., Gülcü, Y., & Hadimli, H. 2005. Antimicrobial susceptibility and coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine clinical mastitis cases in Turkey. *Journal of dairy science*, 88(9): 3149-3154.

Gündoğan, N., Citak, S., & Turan, E. 2006. Slime production, DNase activity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk, pasteurised milk and ice cream samples. *Food Control*, 17(5): 389-392.

Gyles, C. L., Prescott, J. F., Songer, J. G., & Thoen, C. O. 2011. *Pathogenesis of bacterial infections in animals*: John Wiley & Sons.

## H

Haftu, R., Taddele, H., Gugsu, G., & Kalayou, S. 2012. Prevalence, bacterial causes, and antimicrobial susceptibility profile of mastitis isolates from cows in large-scale dairy farms of Northern Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 44(7): 1765-1771.

---

Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., & Hogeveen, H. 2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Veterinary quarterly*, 29(1): 18-31.

Hamann, J., & Griffiths, M. 2010. Mastitis and raw milk quality, safety and yield. *Improving the safety and quality of milk. Volume 1: Milk production and processing*: 246-263.

Hamann, J., Nogai, K., Redetzky, R., Grabowski, N. T., & Heide, A. 2002. 'Milk constituents as tools for mastitis detection', *Proc Satellite Symp Novel Aspects of Mastitis Therapy*, Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Knecht Digital- and Printmedien GmbH, 18-23.

Hamann, J., & Reichmuth, J. 1990. Compensatory milk production within the bovine udder: Effects of short-term non-milking of single quarters. *Journal of dairy research*, 57(01): 17-22.

Hamed, M. I., & Zaitoun, A. 2014. Prevalence of *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis in dairy buffaloes farms. *International Journal of Livestock Research*, 4(3): 21-28.

Hameed, K. G. A., Sender, G., & Korwin-Kossakowska, A. 2007. Public health hazard due to mastitis in dairy cows. *Animal Science Papers and Reports*, 2(25).

Hamiroune, M., Berber, A., & Boubekour, S. 2014. Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique. *Ann. Méd. Vét*, 158: 137-144.

Hanzen, C. 2015. *Physio-anatomie et propédeutique de la glande mammaire. Symptomatologie, étiologie et thérapeutiques. Approches individuelles et de troupeau des mammites.*

Harding, F. 1995. *Milk quality*: Springer. London: Blackie Academic & Professional: 25-26.

Harouna, A., Zecchini, M., Locatelli, C., Scaccabarozzi, L., Cattaneo, C., Amadou, A., Bronzo, V., Marichatou, H., Boettcher, P., & Zanoni, M. 2009. Milk hygiene and udder health in the periurban area of Hamdallaye, Niger. *Tropical animal health and production*, 41(5): 705-710.

Hasan, M. A., Khan, M. A., Sharmin, T., Mazumder, M. H. H., & Chowdhury, A. S. 2016. Identification of putative drug targets in Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) using computer aided protein data analysis. *Gene*, 575(1): 132-143.

Hiramatsu, K., Kayayama, Y., Matsuo, M., Aiba, Y., Saito, M., Hishinuma, T., & Iwamoto, A. 2014. Vancomycin-intermediate resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2(4): 213-224.

Hogan, J., & Smith, K. L. 2003. Coliform mastitis. *Veterinary research*, 34(5): 507-519.



---

Hookey, J., Edwards, V., Cookson, B., & Richardson, J. 1999. PCR-RFLP analysis of the coagulase gene of *Staphylococcus aureus*: application to the differentiation of epidemic and sporadic methicillin-resistant strains. *Journal of Hospital Infection*, 42(3): 205-212.

Hospido, A., & Sonesson, U. 2005. The environmental impact of mastitis: a case study of dairy herds. *Science of the total environment*, 343(1): 71-82.

Hosseinzadeh, S., & Saei, H. D. 2014. Staphylococcal species associated with bovine mastitis in the North West of Iran: emerging of coagulase-negative staphylococci. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 2(1): 27-34.

Hovinen, M., & Pyörälä, S. 2011. Invited review: Udder health of dairy cows in automatic milking. *Journal of dairy science*, 94(2): 547-562.

Hu, Y., Meng, J., Shi, C., Hervin, K., Fratamico, P. M., & Shi, X. 2013. Characterization and comparative analysis of a second thermonuclease from *Staphylococcus aureus*. *Microbiological research*, 168(3): 174-182.

Huang, S.-H., Chen, Y.-C., Chuang, Y.-C., Chiu, S.-K., Fung, C.-P., Lu, P.-L., Wang, L.-S., Wu, T.-L., & Wang, J.-T. 2015. Prevalence of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogeneous VISA among methicillin-resistant *S. aureus* with high vancomycin minimal inhibitory concentrations in Taiwan: A multicenter surveillance study, 2012–2013. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*.

Hultgren, J. 2002. Foot/leg and udder health in relation to housing changes in Swedish dairy herds. *Preventive veterinary medicine*, 53(3): 167-189.

Hummel, R., Devriese, L., & Lehmann, G. 1992. Characteristics of bovine *Staphylococcus aureus* with special regard to clumping factor activity. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 276(4): 487-492.

Hussain, A., Shakoor, A., Yousaf, A., Rehman, S., & Zaman, M. 2012. Clinical and subclinical *Staphylococcus aureus* in dairy buffaloes: disease characteristics and antibiotic susceptibility profiles of isolates. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 22(3): 217-220.

Huxley, J., Green, M., & Bradley, A. 2003. *Corynebacterium bovis*-friend or foe? Paper presented at the British Mastitis Conference 2003, Lancashire, UK, 8th October 2003.

## I

Idriss, S., Foltys, V., Tančín, V., Kirchnerová, K., & Zaujec, K. 2013. Mastitis pathogens in milk of dairy cows in Slovakia. *Slovak Journal of Animal Science*, 46(3): 115-119.

ISO 22000. 2005. Food Safety Management Systems—Requirements for any Organization in the Food Chain.

## J

---

Jamali, H., Paydar, M., Radmehr, B., Ismail, S., & Dadrasnia, A. 2015. Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. *Food Control*, 54: 383-388.

Jamali, H., Radmehr, B., & Ismail, S. 2014. Short communication: prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine clinical mastitis. *Journal of dairy science*, 97(4): 2226-2230.

Jehl, F., Chabaud, A., & Grillon, A. 2015. L'antibiogramme: diamètres ou CMI? *Journal des Anti-infectieux*, 17(4): 125-139.

Jousson, O., Di Bello, D., Vanni, M., Cardini, G., Soldani, G., Pretti, C., & Intorre, L. 2007. Genotypic versus phenotypic identification of staphylococcal species of canine origin with special reference to *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*. *Veterinary microbiology*, 123(1): 238-244.

#### K

Kalorey, D. R., Shanmugam, Y., Kurkure, N. V., Chousalkar, K. K., & Barbuddhe, S. B. 2007. PCR-based detection of genes encoding virulence determinants in *Staphylococcus aureus* from bovine subclinical mastitis cases. *Journal of veterinary science*, 8(2): 151-154.

Kaouche-Adjlane, S., Ghozlane, F., & Mati, A. 2015. Typology of dairy farming systems in the Mediterranean basin (case of Algeria). *Biotechnology in Animal Husbandry*, 31(3): 385-396.

Kapil, A. 2005. The challenge of antibiotic resistance: need to contemplate. *Indian Journal of Medical Research*, 121(2): 83.

Kapur, V., Sicho, W. M., Greer, R. S., Whittam, T. S., & Musser, J. M. 1995. Molecular population genetic analysis of *Staphylococcus aureus* recovered from cows. *Journal of clinical microbiology*, 33(2): 376-380.

Karahan, M., & Cetinkaya, B. 2007. Coagulase gene polymorphisms detected by PCR in *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis in Turkey. *The Veterinary Journal*, 174(2): 428-431.

Karlowsky, J. A., & Richter, S. S. 2015. Antimicrobial Susceptibility Testing Systems, *Manual of Clinical Microbiology*, Eleventh Edition: 1274-1285: American Society of Microbiology.

Karlslose, S., Kunstmann, L., Rundsten, C. F., Krogh, K., Larsen, H., Jensen, A. B., Aarestrup, F. M., & Hendriksen, R. S. 2013. External quality assurance system (EQAS) for identification of mastitis pathogens in Denmark from 2006 to 2011. *Preventive veterinary medicine*, 109(3): 271-277.

---

Kateete, D. P., Kabugo, U., Baluku, H., Nyakarahuka, L., Kyobe, S., Okee, M., Najjuka, C. F., & Joloba, M. L. 2013. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria from milkmen and cows with clinical mastitis in and around Kampala, Uganda. *PloS one*, 8(5): e63413.

Katsande, S., Matope, G., Ndengu, M., & Pfukenyi, D. M. 2013. Prevalence of mastitis in dairy cows from smallholder farms in Zimbabwe. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 80(1): 00-00.

Kebbal,S., Hanzen ,C., & Guetarni ,D .2010.Estimation des pertes et impact économique des mammites en élevage bovin laitier dans la région de Blida. Troisièmes Journées d'Epidémiologie Animale Blida .

Kelly, A. L., Leitner, G., & Merin, U. 2011. Milk quality and udder health | Test methods and standards, *Encyclopedia of Dairy Sciences*: 894-901: Elsevier BV.

Kim, J., Moon, J., Kang, H., Wee, S., & Jung, S. 2010. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococci isolated from bovine mastitis between 2003 and 2008 in Korea. *Journal of microbiology and biotechnology*, 20(10): 1446-1449.

Kivaria, F., & Noordhuizen, J. 2007a. A retrospective study of the aetiology and temporal distribution of bovine clinical mastitis in smallholder dairy herds in the Dar es Salaam region of Tanzania. *The Veterinary Journal*, 173(3): 617-622.

Kivaria, F., Noordhuizen, J., & Nielen, M. 2007b. Interpretation of California mastitis test scores using Staphylococcus aureus culture results for screening of subclinical mastitis in low yielding smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzania. *Preventive veterinary medicine*, 78(3): 274-285.

Kloos, W.E., & Bannermann, T.L. 1999. Staphylococcus and Micrococcus sp. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, DC: ASM Press: 282–298.

Kobayashi, I., Muraoka, H., Iyoda, T., Nishida, M., Hasegawa, M., & Yamaguchi, K. 2004. Antimicrobial susceptibility testing of vancomycin-resistant Enterococcus by the VITEK 2 system, and comparison with two NCCLS reference methods. *Journal of medical microbiology*, 53(12): 1229-1232.

Kozytska, S., Stauß, D., Pawlik, M.-C., Hensen, S., Eckart, M., Ziebuhr, W., Witte, W., & Ohlsen, K. 2010. Identification of specific genes in Staphylococcus aureus strains associated with bovine mastitis. *Veterinary microbiology*, 145(3): 360-365.

Kresken, M., & Hafner, D. 1999. Drug resistance among clinical isolates of frequently encountered bacterial species in central Europe during 1975–1995. *Infection*, 27(2): S2-S8.

---

Kronvall, G., Holmberg, O., & Ripa, T. 1972. Protein A in *Staphylococcus aureus* strains of human and bovine origin. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section B Microbiology and Immunology*, 80(5): 735-742.

Kudinha, T., & Simango, C. 2002. Prevalence of coagulase-negative staphylococci in bovine mastitis in Zimbabwe. *Journal of the South African Veterinary Association*, 73(2): 62-65.

Kuipers, A., Koops, W., & Wemmenhove, H. 2016. Antibiotic use in dairy herds in the Netherlands from 2005 to 2012. *Journal of dairy science*, 99(2): 1632-1648.

Kurjogi, M. M., & Kaliwal, B. B. 2014. Epidemiology of bovine mastitis in cows of Dharwad district. *International Scholarly Research Notices*, 2014.

#### L

Lacasse, P., Lauzon, K., Diarra, M., & Petitclerc, D. 2008. Utilization of lactoferrin to fight antibiotic-resistant mammary gland pathogens. *Journal of animal science*, 86(13\_suppl): 66-71.

Laevens, H., Devriese, L., Deluyker, H., Hommez, J., & de Kruif, A. 1996. An atypical *Staphylococcus aureus* intramammary infection in a dairy herd. *Veterinary microbiology*, 52(3): 271-275.

Lakew, M., Tolosa, T., & Tigre, W. 2009. Prevalence and major bacterial causes of bovine mastitis in Asella, South Eastern Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 41(7): 1525-1530.

Lakshmi-Kavitha, K., Rajesh, K., Suresh, K., Satheesh, K., & Syama-Sundar, N. 2009. Buffalo Mastitis – Risk factors. *Buffalo Bulletin*, 28 (3): 135-137.

Lam, T., Schukken, Y., Van Vliet, J., Grommers, F., Tielen, M., & Brand, A. 1997. Effect of natural infection with minor pathogens on susceptibility to natural infection with major pathogens in the bovine mammary gland. *American journal of veterinary research*, 58(1): 17-22.

Lam, T., Van Den Borne, B., Jansen, J., Huijps, K., Van Veersen, J., van Schaik, G., & Hogeveen, H. 2013. Improving bovine udder health: A national mastitis control program in the Netherlands. *Journal of dairy science*, 96(2): 1301-1311.

Leboffe, M. J., & Pierce, B. E. 2012. A photographic atlas for the microbiology laboratory: Morton Publishing Company.

Le Maréchal, C., Thiéry, R., Vautor, E., & Le Loir, Y. 2011. Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products—a review. *Dairy Science & Technology*, 91(3): 247-282.

---

Lee, J. H. 2003. Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *Applied and environmental microbiology*, 69(11): 6489-6494.

Liebana, E., Carattoli, A., Coque, T. M., Hasman, H., Magiorakos, A.-P., Mevius, D., Peixe, L., Poirel, L., Schuepbach-Regula, G., & Torneke, K. 2012. The public health risks of enterobacterial isolates producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) or AmpC  $\beta$ -lactamases in food and food-producing animals: an EU perspective of epidemiology, analytical methods, risk factors and control options. *Clinical Infectious Diseases*: cis1043.

Livermore, D. 2007. The zeitgeist of resistance. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 60(suppl 1): i59-i61.

Livermore, D., Struelens, M., Amorim, J., Baquero, F., Bille, J., Canton, R., Henning, S., Gatermann, S., Marchese, A., & Mittermayer, H. 2002. Multicentre evaluation of the VITEK 2 Advanced Expert System for interpretive reading of antimicrobial resistance tests. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 49(2): 289-300.

Lund, B. M., & O'Brien, S. J. 2011. The occurrence and prevention of foodborne disease in vulnerable people. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(9): 961-973.

Lüthje, P., & Schwarz, S. 2006. Antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci from bovine subclinical mastitis with particular reference to macrolide–lincosamide resistance phenotypes and genotypes. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 57(5): 966-969.

## M

M'sadak, Y., Mighri, L., & Kraiem, K. 2013. Situation Sanitaire Mammaire et Pertes Quantitatives Laitières Générées par les Élévations Cellulaires dans des Élevages Bovins Hors Sol en Tunisie. *Algerian Journal of Arid Environment*, 3(2): 74-85.

Madani, T., & Mouffok, C. 2008. Milk production and reproductive performance of Montbeliarde cows in a semiarid area of Algeria. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 61(2).

Madec, J.-Y. 2012. État des lieux de la résistance aux antibiotiques chez l'animal en France: faits marquants et tendances. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, 165(2): 103-108.

Maga, E. A. 2005. Genetically engineered livestock: closer than we think? *Trends in biotechnology*, 23(11): 533-535.

Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R., Carmeli, Y., Falagas, M., Giske, C., Harbarth, S., Hindler, J., Kahlmeter, G., & Olsson-Liljequist, B. 2012. Multidrug-resistant, extensively

---

drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection*, 18(3): 268-281.

Mahmmod, Y. S., Toft, N., Katholm, J., Grønbaek, C., & Klaas, I. C. 2013. Bayesian estimation of test characteristics of real-time PCR, bacteriological culture and California mastitis test for diagnosis of intramammary infections with *Staphylococcus aureus* in dairy cattle at routine milk recordings. *Preventive veterinary medicine*, 112(3): 309-317.

Malinowski, E., Klossowska, A., Kaczmarowski, M., Lassa, H., & Kuzma, K. 2002. Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from affected with mastitis cows. *BULLETIN-VETERINARY INSTITUTE IN PULAWY*, 46(2): 289-294.

Malinowski, E., Lassa, H., Tomaszewska, J., & Małkińska-Horodyńska, M. 2011. Phenotypical identification of atypical *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk of cows from one herd. *Bull Vet Inst Pulawy*, 55: 211-215.

Mamache, B., Rabehi, S., & Meziane, T. 2014. Bacteriological Study of Subclinical Mastitis in Batna and Setif Governorates Algeria. *J. Vet. Adv*, 4(2): 364-373.

Mandal, S. M., Ghosh, A. K., & Pati, B. R. 2015. Dissemination of antibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *S aureus* strains isolated from hospital effluents. *American journal of infection control*, 43(12): e87-e88.

Maor, Y., Hagin, M., Belausov, N., Keller, N., Ben-David, D., & Rahav, G. 2009. Clinical features of heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* bacteremia versus those of methicillin-resistant *S. aureus* bacteremia. *Journal of Infectious Diseases*, 199(5): 619-624.

Marimuthu, M., Abdullah, F. F. J., Mohammed, K., Sangeetha, D., Poshpum, O. S., Adamu, L., Osman, A. Y., Abba, Y., & Tijjani, A. 2014. Prevalence and antimicrobial resistance assessment of subclinical mastitis in milk samples from selected dairy farms. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 9(1): 65.

Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., & Maguire, D. 2013. *Clinical veterinary microbiology*: Elsevier Health Sciences:105-433.

Marques, V. F., Souza, M., de Mendonça, E. C., Alencar, T. A. d., Pribul, B. R., Coelho, S. d. M. d. O., Lasagno, M., & Reinoso, E. B. 2013. Phenotypic and genotypic analysis of virulence in *Staphylococcus* spp. and its clonal dispersion as a contribution to the study of bovine mastitis. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(2): 161-170.

Marshall, B. M., & Levy, S. B. 2011. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical microbiology reviews*, 24(4): 718-733.

Maxim, P., Mathews, H., & Mengoli, H. 1976. Single-tube mixed agglutination test for the detection of staphylococcal protein A. *Journal of clinical microbiology*, 4(5): 418-422.

McDougall, S. 2003. Intramammary treatment of clinical mastitis of dairy cows with a combination of lincomycin and neomycin, or penicillin and dihydrostreptomycin. *New Zealand veterinary journal*, 51(3): 111-116.

McDougall, S., Parker, K., Heuer, C., & Compton, C. 2009. A review of prevention and control of heifer mastitis via non-antibiotic strategies. *Veterinary microbiology*, 134(1): 177-185.

Mekonnen, H., & Tesfaye, A. 2010. Prevalence and etiology of mastitis and related management factors in market oriented smallholder dairy farms in Adama, Ethiopia. *Revue Méd. Vét.*, 161(12): 574-579.

Mellenberger, R. 2001. California Mastitis Test (CMT)-An invaluable tool for managing mastitis. [http://: www. uwex. edu/milkquality](http://www.uwex.edu/milkquality) acessado em, 7.

Mialot, J. 1983. Technique de prelevement de lait pour examen bacteriologique [bovins, mammiferes]. *Recueil de Medecine Veterinaire*.

Mir, A. Q., Bansal, B., & Gupta, D. 2014. Subclinical mastitis in machine milked dairy farms in Punjab: prevalence, distribution of bacteria and current antibiogram. *Veterinary World*, 7(5).

Moges, N., Hailemariam, T., Fentahun, T., Chanie, M., & Melaku, A. 2012. Bovine mastitis and associated risk factors in small holder lactating dairy farms in Hawassa, southern Ethiopia. *Global Veterinaria*, 9(4): 441-446.

Molenaar, A., Kuys, Y., Davis, S., Wilkins, R., Mead, P., & Tweedie, J. 1996. Elevation of lactoferrin gene expression in developing, ductal, resting, and regressing parenchymal epithelium of the ruminant mammary gland. *Journal of dairy science*, 79(7): 1198-1208.

Momtaz, H., Tajbakhsh, E., Rahimi, E., & Momeni, M. 2011. Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and sub-clinical bovine mastitis in Isfahan and Chaharmahal va Bakhtiari provinces of Iran. *Comparative clinical pathology*, 20(5): 519-522.

Moon, J., Lee, A., Kang, H., Lee, E., Joo, Y., Park, Y. H., Kim, M., & Koo, H. 2007. Antibiogram and coagulase diversity in staphylococcal enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. *Journal of dairy science*, 90(4): 1716-1724.

Mortari, A., & Lorenzelli, L. 2014. Recent sensing technologies for pathogen detection in milk: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 60: 8-21.

---

Mosaferi, S., Jalili, T., Ostadi, Z., Khakpour, M., & Bodaghi, H. 2012. Sensitivity of *Staphylococcus aureus* Isolated from Subclinical Bovine Mastitis to Co-Amoxiclav in Tabriz Dairy Herd in 2010. *Research Journal of Biological Sciences*, 7(4): 165-169.

M'Sadak, Y., MIGHRI, L., & KRAIEM, K. 2014. Etude des numérations cellulaires du lait et analyse descriptive des facteurs de risque des mammites en élevage bovin hors sol dans la région de Monastir (Tunisie). *Revue Nature & Technologie*, 10 :56-61.

Mubarack, H. M., Doss, A., Vijayasanthi, M., & Venkataswamy, R. 2012. Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Coimbatore, Tamilnadu, South India. *Veterinary World*, 5(6).

Mungube, E., Tenhagen, B.-A., Kassa, T., Regassa, F., Kyule, M., Greiner, M., & Baumann, M. 2004. Risk factors for dairy cow mastitis in the central highlands of Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 36(5): 463-472.

Muylaert, A., & Mainil, J. 2012. Résistances bactériennes aux antibiotiques: les mécanismes et leur "contagiosité". *Ann. Méd. Vét*, 156: 109-123.

#### N

Nahed, M., Dalia, K., Ahlam, K., & Abeer, A. 2013. A Biosecurity measures application with proper treatment to overcome the risk factors that limit effective control of subclinical mastitis in dairy buffalo farms-A field study. *Nature and Science*, 11(7): 140-151.

Narmeen, S., & Jubrael, J. M. 2009. Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* using classical and molecular methods. *J. Duhok Univ*, 12: 10-16.

Nedjraoui, D. 2003. Profil fourrager. Université des Sciences et de la Technologie H. Boumediène (USTHB). Alger.

Nickerson, S. 1995. Milk production: Factors affecting milk composition, *Milk Quality*: 3-24: Springer.

Nyman, A.-K., Waller, K. P., Bennedsgaard, T. W., Larsen, T., & Emanuelson, U. 2014. Associations of udder-health indicators with cow factors and with intramammary infection in dairy cows. *Journal of dairy science*, 97(9): 5459-5473.

#### O

Ogola, H., Shitandi, A., & Nanua, J. 2007. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. *Journal of veterinary science*, 8(3): 237-242.

Oliver, S., Gillespie, B., Headrick, S., Lewis, M., & Dowlen, H. 2004. Heifer mastitis: prevalence, risk factors and control strategies. Paper presented at the National Mastitis Council.

Oltenacu, P. A., & Broom, D. M. 2010. The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. *Animal welfare*, 19(1): 39-49.



---

Oncel, T., Ica, T., & Akan, M. 2004. Beta lactamase production rate and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and subclinical mastitis cases in Turkey. *REVUE DE MEDECINE VETERINAIRE*, 155(7): 385-388.

Oviedo-Boyso, J., Valdez-Alarcón, J. J., Cajero-Juárez, M., Ochoa-Zarzosa, A., López-Meza, J. E., Bravo-Patino, A., & Baizabal-Aguirre, V. M. 2007. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Journal of Infection*, 54(4): 399-409.

## P

Paape, M. J., Bannerman, D. D., Zhao, X., & Lee, J.-W. 2003. The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk. *Veterinary research*, 34(5): 597-627.

Padilla, M., & Ghersi, G. 2001. Le marché international du lait et des produits laitiers. Les filières et marchés du lait et dérivés en Méditerranée: Etat des lieux, problématique et méthodologie pour la recherche. *Options Méditerranéennes, Série B, Etudes et Recherches*(32): 7-21.

Paradis, M.-È., Bouchard, É., Scholl, D., Miglior, F., & Roy, J.-P. 2010. Effect of nonclinical *Staphylococcus aureus* or coagulase-negative staphylococci intramammary infection during the first month of lactation on somatic cell count and milk yield in heifers. *Journal of dairy science*, 93(7): 2989-2997.

Pawar, P. 2009. Molecular characterization of *S. aureus* from bovine mastitis. M. V. Sc. Thesis, submitted to Maharashtra Animal and Fishery Science University, Nagpur

Payne, W. J. A., & Wilson, R. T. 1999. *An introduction to animal husbandry in the tropics*: Blackwell science.

Périchon, B., & Courvalin, P. 2009. Antibiotic Resistance, *Encyclopedia of Microbiology*: 193-204: Elsevier BV.

Personne, P., Bes, M., Lina, G., Vandenesch, F., Brun, Y., & Etienne, J. 1997. Comparative performances of six agglutination kits assessed by using typical and atypical strains of *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology*, 35(5): 1138-1140.

Petzl, W., Zerbe, H., Günther, J., Yang, W., Seyfert, H.-M., Nürnberg, G., & Schuberth, H.-J. 2008. *Escherichia coli*, but not *Staphylococcus aureus* triggers an early increased expression of factors contributing to the innate immune defense in the udder of the cow. *Veterinary research*, 39(2): 1-23.

Pfaller, M. A., & Herwaldt, L. A. 1988. Laboratory, clinical, and epidemiological aspects of coagulase-negative staphylococci. *Clinical microbiology reviews*, 1(3): 281-299.

---

Phillips, I., Casewell, M., Cox, T., De Groot, B., Friis, C., Jones, R., Nightingale, C., Preston, R., & Waddell, J. 2004. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 53(1): 28-52.

Piepers, S., Opsomer, G., Barkema, H., de Kruijff, A., & De Vliegher, S. 2010. Heifers infected with coagulase-negative staphylococci in early lactation have fewer cases of clinical mastitis and higher milk production in their first lactation than noninfected heifers. *Journal of dairy science*, 93(5): 2014-2024.

Piepers, S., Peeters, K., Opsomer, G., Barkema, H., Frankena, K., & De Vliegher, S. 2011. Pathogen group specific risk factors at herd, heifer and quarter levels for intramammary infections in early lactating dairy heifers. *Preventive veterinary medicine*, 99(2): 91-101.

Piessens, V., Van Coillie, E., Verbist, B., Supré, K., Braem, G., Van Nuffel, A., De Vuyst, L., Heyndrickx, M., & De Vliegher, S. 2011. Distribution of coagulase-negative *Staphylococcus* species from milk and environment of dairy cows differs between herds. *Journal of dairy science*, 94(6): 2933-2944.

Plozza, K., Lievaart, J., Potts, G., & Barkema, H. 2011. Subclinical mastitis and associated risk factors on dairy farms in New South Wales. *Australian veterinary journal*, 89(1-2): 41-46.

Porcher, C. 1932. L'infection latente de la mamelle et ses réveils. Les moyens de la dépister.(Suite). *Le Lait*, 12(117): 687-703.

Poutrel, B., Boutonnier, A., Sutra, L., & Fournier, J. 1988. Prevalence of capsular polysaccharide types 5 and 8 among *Staphylococcus aureus* isolates from cow, goat, and ewe milk. *Journal of clinical microbiology*, 26(1): 38-40.

Pyörälä, S. 2003. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary research*, 34(5): 565-578.

Pyörälä, S., & Taponen, S. 2009. Coagulase-negative staphylococci—Emerging mastitis pathogens. *Veterinary microbiology*, 134(1): 3-8.

## Q

Quentin-Noury, C. 2016. Automatisation de l'antibiogramme au laboratoire de bactériologie. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2016(482): 49-59.

Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., FitzPatrick, E. S., Fanning, S., & Hartigan, P. 2011. *Veterinary microbiology and microbial disease*: John Wiley & Sons.

## R

Radostits, D.M., Blood, D.C., Gay, C.C. 1994. *Veterinary Medicine: A Textbook of Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. Bailliere Tindall: London, UK:501–550.

- 
- Radostits, O.M., Gay ,C.C., Hinchchiff ,K.W. & Constable ,P.D. 2007. A Text book of the Disease of cattle, sheep, pigs and goats. London: Ballieer, Tindall.
- Radostits, O.M., GAY, C.C., Hinchcliff, K.W.2006.Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Elsevier Health Sciences.
- Radostits, O. M., Leslie, K., & Fetrow, J. 1995. Herd health: food animal production medicine: WB Saunders company.
- Radwan, I. A., Shehata, A. A., Abdel-Ghani, A. E., Abdullah, M. M., & Abdraboh, A. A. 2015. Phenotypic and Genotypic Diversity of Staphylococcus aureus Isolated from Livestock and Human.
- Rahul ,Y., Sandeep-Kumar, S., Jyotika, Y., Prerna, N., & Anil-Kumar, K. 2015. Phenotypic and Genotypic Characterization of Staphylococcus aureus of Mastitic Milk Origin from Cattle and Buffalo for some Virulence Properties .Journal of Pure and Applied Microbiology, 1(9):425-431.
- Rainard, P., & Riollet, C. 2003. Mobilization of neutrophils and defense of the bovine mammary gland. Reproduction Nutrition Development, 43(5): 439-457.
- Rajic-Savic, N., Katic, V., Velebit, B., & Colovic, S. 2015. Characteristics of Enterotoxigenic Coagulase Positive Staphylococci Isolated from Bovine Milk in Cases of Subclinical Mastitis. Procedia Food Science, 5: 250-253.
- Rakotozandrindrainy, R., Razafindrajaona, J., & Foucras, G. 2007. Diagnostic rapide à la ferme des mammites subcliniques des vaches laitières du triangle laitier des hautes terres de Madagascar. REVUE DE MEDECINE VETERINAIRE, 158(2): 100.
- Ranjan, R., Gupta, M., & Singh, K. 2011. Study of bovine mastitis in different climatic conditions in Jharkhand, India. Veterinary World, 4(5): 205-208.
- Rasmussen, M. D., Bjerring, M., & Skjøth, F. 2005. Visual appearance and CMT score of foremilk of individual quarters in relation to cell count of cows milked automatically. Journal of dairy research, 72(01): 49-56.
- Reinoso, E., El-Sayed, A., Lämmler, C., Bogni, C., & Zschöck, M. 2008. Genotyping of Staphylococcus aureus isolated from humans, bovine subclinical mastitis and food samples in Argentina. Microbiological research, 163(3): 314-322.
- Rekhis, J., Saaidane, F., Laamouri, M., Hamida, K. B., Mabrouk, W., & Slimane, N. 2007. Participatory rural appraisal in smallholder dairy systems in Tunisia. Tropical animal health and production, 39(8): 619-626.
- Resch, G., François, P., Morisset, D., Stojanov, M., Bonetti, E. J., Schrenzel, J., Sakwinska, O., & Moreillon, P. 2013. Human-to-bovine jump of Staphylococcus aureus CC8 is associated
-

---

with the loss of a  $\beta$ -hemolysin converting prophage and the acquisition of a new staphylococcal cassette chromosome. *PloS one*, 8(3): e58187.

Riegel, P., Jesel-Morel, L., Laventie, B., Boisset, S., Vandenesch, F., & Prévost, G. 2011. Coagulase-positive *Staphylococcus pseudintermedius* from animals causing human endocarditis. *International Journal of Medical Microbiology*, 301(3): 237-239.

Roberson, J., Fox, L., Hancock, D., Gay, J., & Besser, T. 1998. Sources of intramammary infections from *Staphylococcus aureus* in dairy heifers at first parturition. *Journal of dairy science*, 81(3): 687-693.

Roca, I., Akova, M., Baquero, F., Carlet, J., Cavaleri, M., Coenen, S., Cohen, J., Findlay, D., Gyssens, I., & Heur, O. 2015. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New microbes and new infections*, 6: 22-29.

Rodrigues, A., Cassoli, L., Machado, P., & Ruegg, P. 2009. Short communication: evaluation of an on-farm test to estimate somatic cell count. *Journal of dairy science*, 92(3): 990-995.

Roisin, S., Nonhoff, C., Denis, O., & Struelens, M. J. 2008. Evaluation of new Vitek 2 card and disk diffusion method for determining susceptibility of *Staphylococcus aureus* to oxacillin. *Journal of clinical microbiology*, 46(8): 2525-2528.

Rollin, E., Dhuyvetter, K., & Overton, M. 2015. The cost of clinical mastitis in the first 30 days of lactation: an economic modeling tool. *Preventive veterinary medicine*, 122(3): 257-264.

Roussel, P., Raynaud, S., Guillon, C. K., & De Cremoux, R. 2006. Identification des démarches visant à mieux raisonner l'utilisation des médicaments dans les troupeaux laitiers des différents états membres de la communauté européenne. *Rencontres autour des recherches sur les ruminants*: 29-32.

Roy, J.-P., Du Tremblay, D., DesCôteaux, L., Messier, S., Scholl, D., & Bouchard, É. 2009. Evaluation of the California Mastitis Test as a precalving treatment selection tool for Holstein heifers. *Veterinary microbiology*, 134(1): 136-142.

Royster, E., & Wagner, S. 2015. Treatment of mastitis in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 31(1): 17-46.

Ruegg, P., Oliveira, L., Jin, W., & Okwumabua, O. 2015. Phenotypic antimicrobial susceptibility and occurrence of selected resistance genes in gram-positive mastitis pathogens isolated from Wisconsin dairy cows. *Journal of dairy science*, 98(7): 4521-4534.

Russi, N., Bantar, C., & Calvino, L. 2008. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis in Argentine dairy herds. *Revista Argentina de Microbiología*, 40(2): 116-119.

## S

Saei, H. D., Ahmadi, M., Mardani, K., & Batavani, R. 2009. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis based on polymorphism of the coagulase gene in the north west of Iran. *Veterinary microbiology*, 137(1): 202-206.

Sahu, B., Mukherjee, R., Kumar, A., Kumar, A., & Sahu, J. 2014. Prevalence of coagulase gene positive *Staphylococcus aureus* bovine mastitis in three distinct geoclimatic regions of India. *Buffalo Bulletin*, 33(2): 208-214.

Saidi, R., Cantekin, Z., Khelef, D., Ergün, Y., Solmaz, H., & Kaidi, R. 2015. Antibiotic Susceptibility and Molecular Identification of Antibiotic Resistance Genes of *Staphylococci* Isolated from Bovine Mastitis in Algeria. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(4): 513-520.

Saidi, R., Khelef, D., & Kaidi, R. 2010. Evaluation d'un test de dépistage précoce des mammites subcliniques des vaches= Evaluation of a test for early detection of subclinical mastitis in cows= Evaluación de un test de despistaje precoz de mastitis subclínicas de vacas. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 63(3-4).

Saidi, R., Khelef, D., & Kaidi, R. 2013. Bovine mastitis: Prevalence of bacterial pathogens and evaluation of early screening test. *African Journal of Microbiology Research*, 7(9): 777-782.

Saini, V., McClure, J. T., Scholl, D., DeVries, T., & Barkema, H. 2012. Herd-level association between antimicrobial use and antimicrobial resistance in bovine mastitis *Staphylococcus aureus* isolates on Canadian dairy farms. *Journal of dairy science*, 95(4): 1921-1929.

Sandel, M. K., & McKillip, J. L. 2004. Virulence and recovery of *Staphylococcus aureus* relevant to the food industry using improvements on traditional approaches. *Food Control*, 15(1): 5-10.

Sanders, P. 2005. L'antibiorésistance en médecine vétérinaire: enjeux de santé publique et de santé animale.

Sanders, P., Bousquet-Mélou, A., Chauvin, C., & Toutain, P.-L. 2011. Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique. *INRA Productions animales*, 24(2): 199-204.

Sandgren, C. H., Waller, K. P., & Emanuelson, U. 2008. Therapeutic effects of systemic or intramammary antimicrobial treatment of bovine subclinical mastitis during lactation. *The Veterinary Journal*, 175(1): 108-117.

- 
- Sanford, C., Keefe, G. P., Sanchez, J., Dingwell, R., Barkema, H., Leslie, K., & Dohoo, I. R. 2006. Test characteristics from latent-class models of the California Mastitis Test. *Preventive veterinary medicine*, 77(1): 96-108.
- Sargeant, J., Leslie, K., Shirley, J., Pulkrabek, B., & Lim, G. 2001. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 84(9): 2018-2024.
- Sasaki, T., Tsubakishita, S., Tanaka, Y., Sakusabe, A., Ohtsuka, M., Hirotaki, S., Kawakami, T., Fukata, T., & Hiramatsu, K. 2010. Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. *Journal of clinical microbiology*, 48(3): 765-769.
- Sawant, A., Gillespie, B., & Oliver, S. 2009. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative *Staphylococcus* species isolated from bovine milk. *Veterinary microbiology*, 134(1): 73-81.
- Scali, F., Camussone, C., Calvino, L., Cipolla, M., & Zecconi, A. 2015. Which are important targets in development of *S. aureus* mastitis vaccine? *Research in veterinary science*, 100: 88-99.
- Schalm, O., & Noorlander, D. 1957. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 130(5): 199-204.
- Schleifer, K.H., & Bell, J.A. 2009. Family VIII. Staphylococcaceae. : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Firmicutes*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, 3: 392-426.
- Schmidt, T., Kock, M. M., & Ehlers, M. M. 2015. Diversity and antimicrobial susceptibility profiling of staphylococci isolated from bovine mastitis cases and close human contacts. *Journal of dairy science*, 98(9): 6256-6269.
- Schukken, Y., Tikofsky, L., & Zadoks, R. 2005. Environmental control for mastitis prevention, milk quality and safety. *Mastitis in dairy production: current knowledge and future solutions*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- Schukken, Y. H., González, R. N., Tikofsky, L. L., Schulte, H. F., Santisteban, C. G., Welcome, F. L., Bennett, G. J., Zurakowski, M. J., & Zadoks, R. N. 2009. CNS mastitis: Nothing to worry about? *Veterinary microbiology*, 134(1): 9-14.
- Schutz, M. 1994. Genetic evaluation of somatic cell scores for United States dairy cattle. *Journal of dairy science*, 77(7): 2113-2129.
- Schwarz, S., & Chaslus-Dancla, E. 2001a. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Veterinary research*, 32(3-4): 201-225.
-

- 
- Schwarz, S., Kehrenberg, C., & Walsh, T. 2001b. Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *International journal of antimicrobial agents*, 17(6): 431-437.
- Segura, P., Martinez, J., Peris, B., Selva, L., Viana, D., Penades, J., & Corpa, J. 2007. Staphylococcal infections in rabbit does on two industrial farms. *Veterinary Record: Journal of the British Veterinary Association*, 160(25).
- Senger, P. L. 2005. *The parturition and lactation : Pathways to Pregnancy and Parturition*, 2nd revised edition, Current Conceptions, Inc., Washington:343.
- Simonsen, G. S., Tapsall, J. W., Allegranzi, B., Talbot, E. A., & Lazzari, S. 2004. The antimicrobial resistance containment and surveillance approach-a public health tool. *Bulletin of the World Health Organization*, 82(12): 928-934.
- Singh, R., Kumar, R., & Yadav, B. 2011. Distribution of pathogenic factors in *Staphylococcus aureus* strains isolated from intra-mammary infections in cattle and buffaloes. *Indian Journal of Biotechnology*, 10(4): 410-416.
- Sinha, M. K., Thombare, N., & Mondal, B. 2014. Subclinical mastitis in dairy animals: Incidence, economics, and predisposing factors. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Skov, R., Smyth, R., Clausen, M., Larsen, A., Frimodt-Møller, N., Olsson-Liljequist, B., & Kahlmeter, G. 2003. Evaluation of a cefoxitin 30 µg disc on Iso-Sensitest agar for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 52(2): 204-207.
- Smith, K. 2002. A discussion of normal and abnormal milk based on somatic cell count and clinical mastitis. *Bulletin-International Dairy Federation*(372): 43-45.
- Soares, J. C., Marques, M. R., Tavora, F. K., Pereira, J. O., Malcata, F. X., & Pintado, M. M. 2011. Biodiversity and characterization of *Staphylococcus* species isolated from a small manufacturing dairy plant in Portugal. *International journal of food microbiology*, 146(2): 123-129.
- Sol, J., Sampimon, O., Snoep, J., & Schukken, Y. 1997. Factors associated with bacteriological cure during lactation after therapy for subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal of dairy science*, 80(11): 2803-2808.
- Sordillo, L. M. 2005. Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Livestock Production Science*, 98(1): 89-99.
- Sordillo, L. M., & Streicher, K. L. 2002. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 7(2): 135-146.
-

- 
- Sori, H., Zerihun, A., & Abdicho, S. 2005. Dairy cattle mastitis in and around Sebeta, Ethiopia. *Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 3(4): 332.
- Soulsby, L. 2007. Antimicrobials and animal health: a fascinating nexus. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 60(suppl 1): i77-i78.
- Sraïri, M. 2008. Perspectives de durabilité des élevages de bovins laitiers au Maghreb à l'aune des défis futurs: libéralisation des marchés, aléas climatiques et sécurisation des approvisionnements. Colloque International INA 20 et 21 Avril 2008. *Le Développement Durable des Productions Animales: Enjeux. Evaluation et Perspectives*.
- Sraïri, M., Benhouda, H., Kuper, M., & Le Gal, P. 2009a. Effect of cattle management practices on raw milk quality on farms operating in a two-stage dairy chain. *Tropical animal health and production*, 41(2): 259-272.
- Sraïri, M. T., Benyoucef, M. T., & Kraiem, K. 2013. The dairy chains in North Africa (Algeria, Morocco and Tunisia): from self sufficiency options to food dependency? *SpringerPlus*, 2(1): 1.
- Sraïri, M. T., Kiade, N., Lyoubi, R., Messad, S., & Faye, B. 2009b. A comparison of dairy cattle systems in an irrigated perimeter and in a suburban region: case study from Morocco. *Tropical animal health and production*, 41(5): 835-843.
- Sraïri, M. T., LEBLOND, J.-M., & Bourbouze, A. 2007a. Production de lait et/ou de viande: diversité des stratégies des éleveurs de bovins dans le périmètre irrigué du Gharb au Maroc. *Lait et produits laitiers en Méditerranée: des filières en pleine restructuration*: 25.
- Sraïri, M. T., Salem, M. B., Bourbouze, A., Elloumi, M., Faye, B., Madani, T., & Yakhlef, H. 2007b. Analyse comparée de la dynamique de la production laitière dans les pays du Maghreb. *Cahiers agricoles*, 16(4): 251-257.
- Stefanakis, A., Boscov, C., Alexopoulos, C., & Samartzi, F. 1995. Frequency of subclinical mastitis and observations on somatic cell counts in ewes' milk in northern Greece. *Animal Science*, 61(01): 69-76.
- Sudhan, N., Singh, R., Singh, M., & Soodan, J. 2005. Studies on prevalence, etiology and diagnosis of subclinical mastitis among crossbred cows. *Indian Journal of Animal Research*, 39(2): 127-130.
- Supré, K., Haesebrouck, F., Zadoks, R., Vaneechoutte, M., Piepers, S., & De Vlieghe, S. 2011. Some coagulase-negative *Staphylococcus* species affect udder health more than others. *Journal of dairy science*, 94(5): 2329-2340.
-



## T

- Tang, Y.W. 2015. *Molecular Medical Microbiology* Elsevier BV: 399-406:
- Taponen, S., Björkroth, J., & Pyörälä, S. 2008. Coagulase-negative staphylococci isolated from bovine extramammary sites and intramammary infections in a single dairy herd. *Journal of dairy research*, 75(04): 422-429.
- Taponen, S., Koort, J., Björkroth, J., Saloniemi, H., & Pyörälä, S. 2007. Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism-based analysis. *Journal of dairy science*, 90(7): 3301-3307.
- Taponen, S., & Pyörälä, S. 2009. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis—Not so different from *Staphylococcus aureus*? *Veterinary microbiology*, 134(1): 29-36.
- Taponen, S., Simojoki, H., Haveri, M., Larsen, H. D., & Pyörälä, S. 2006. Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP. *Veterinary microbiology*, 115(1): 199-207.
- Tenhagen, B.-A., Köster, G., Wallmann, J., & Heuwieser, W. 2006. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *Journal of dairy science*, 89(7): 2542-2551.
- Thomas, V., de Jong, A., Moyaert, H., Simjee, S., El Garch, F., Morrissey, I., Marion, H., & Vallé, M. 2015. Antimicrobial susceptibility monitoring of mastitis pathogens isolated from acute cases of clinical mastitis in dairy cows across Europe: VetPath results. *International journal of antimicrobial agents*, 46(1): 13-20.
- Thorberg, B.-M., Danielsson-Tham, M.-L., Emanuelson, U., & Waller, K. P. 2009. Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. *Journal of dairy science*, 92(10): 4962-4970.
- Thrusfield, M. 2005. *Veterinary epidemiology: Determinants of disease*. Blackwell publishing : 76.
- Tolosa, T., Verbeke, J., Piepers, S., Supré, K., & De Vliegher, S. 2013. Risk factors associated with subclinical mastitis as detected by California Mastitis Test in smallholder dairy farms in Jimma, Ethiopia using multilevel modelling. *Preventive veterinary medicine*, 112(1): 68-75.

---

Trinidad, P., Nickerson, S., & Alley, T. 1990. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. *Journal of dairy science*, 73(1): 107-114.

Türkyilmaz, S., & Kaya, O. 2006. Determination of some virulence factors in *Staphylococcus* spp. isolated from various clinical samples. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30(1): 127-132.

Turutoglu, H., Ercelik, S., & Ozturk, D. 2006. Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis. *BULLETIN-VETERINARY INSTITUTE IN PULAWY*, 50(1): 41.

Tyagi, S.P., Joshi, R.K., & Joshi, N. 2013. Characterization and Antimicrobial Sensitivity of *Staphylococcus aureus* Isolates from Subclinical Bovine Mastitis. *Journal of Animal Health and Production*, 1(2):20–23.

## U

Unakal, C., & Kaliwal, B. 2010. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. *Vet World*, 3: 65-67.

## V

Valsangiacomo, C., Dolina, M., Peduzzi, R., & Jäggi, M. 2000. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from hospitalized patients and dairy food (fresh cheese): a survey over a decade in southern Switzerland. *Clinical microbiology and infection*, 6(7): 393-394.

Van-Den-Bogaard, A. E., & Stobberingh, E. E. 2000. Epidemiology of resistance to antibiotics: links between animals and humans. *International journal of antimicrobial agents*, 14(4): 327-335.

Van Griethuysen, A., Bes, M., Etienne, J., Zbinden, R., & Kluytmans, J. 2001. International multicenter evaluation of latex agglutination tests for identification of *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology*, 39(1): 86-89.

Vermorel, M., & Coulon, J. 1998. Comparison of the National Research Council energy system for lactating cows with four European systems. *Journal of dairy science*, 81(3): 846-855.

Viguiet, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K., & O’Kennedy, R. 2009. Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in biotechnology*, 27(8): 486-493.

Vijaya Reddy, L., Choudhuri, P., & Hamza, P. 1998. Sensitivity, specificity and predictive values of various indirect tests in the diagnosis of sub-clinical mastitis. *Indian veterinary journal*, 75(11): 1004-1005.

---

Vishnupriya, S., Antony, P., Mukhopadhyay, H., Pillai, R., Thanislass, J., Srinivas, V., & Kumar, R. 2014. Methicillin resistant staphylococci associated with bovine mastitis and their zoonotic importance. *Veterinary World*, 7(6): 422-427.

## W

Waage, S., Mørk, T., Røros, A., Aasland, D., Hunshamar, A., & Ødegaard, S. 1999. Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. *Journal of dairy science*, 82(4): 712-719.

Waller, K. P., Aspan, A., Nyman, A., Persson, Y., & Andersson, U. G. 2011. CNS species and antimicrobial resistance in clinical and subclinical bovine mastitis. *Veterinary microbiology*, 152(1): 112-116.

Wallmann, J., Schröter, K., Wieler, L. H., & Kroker, R. 2003. National antibiotic resistance monitoring in veterinary pathogens from sick food-producing animals: the German programme and results from the 2001 pilot study. *International journal of antimicrobial agents*, 22(4): 420-428.

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

Wilson, I., Cooper, J. E., & Gilmour, A. 1991. Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in dried skimmed milk: use of the polymerase chain reaction for amplification and detection of staphylococcal enterotoxin genes *entB* and *entC1* and the thermonuclease gene *nuc*. *Applied and environmental microbiology*, 57(6): 1793-1798.

Winblad, S., & Ericson, C. 1973. Sensitized sheep red cells as a reactant for *Staphylococcus aureus* protein A. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section B Microbiology and Immunology*, 81(1): 150-156.

Winstanley, T., & Courvalin, P. 2011. Expert systems in clinical microbiology. *Clinical microbiology reviews*, 24(3): 515-556.

Wiśniewska, K., Garbacz, K., & Piechowicz, L. 2008. Genotypic screening of atypical *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples for presence of selected adhesin genes. *Médecine et maladies infectieuses*, 38(10): 549-553.

Woolford, M. 1985. The relationship between mastitis and milk yield. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* (Germany, FR).

## X

---

Xu, J., Tan, X., Zhang, X., Xia, X., & Sun, H. 2015. The diversities of staphylococcal species, virulence and antibiotic resistance genes in the subclinical mastitis milk from a single Chinese cow herd. *Microbial pathogenesis*, 88: 29-38.

## Y

Younis, A., Leitner, G., Heller, D. E., Samra, Z., Gadba, R., Lubashevsky, G., Chaffer, M., Yadin, N., Winkler, M., & Saran, A. 2000. Phenotypic Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis in Israeli Dairy Herds. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 47(8): 591-597.

## Z

Zadoks, R. 2003. Contagious and Environmental pathogens: from dichotomy to sliding scale. *International Dairy Federation IDF, Mastitis newsletter*(25): 16-17.

Zadoks, R. N., & Watts, J. L. 2009. Species identification of coagulase-negative staphylococci: genotyping is superior to phenotyping. *Veterinary microbiology*, 134(1): 20-28.

Zastempowska, E., Orczykowska-Kotyna, M., & Lassa, H. 2014. Isolation of nuc mutant isolates of *Staphylococcus aureus* from bovine clinical mastitis. *The Veterinary Journal*, 200(3): 446-448.

Zecconi, A. 2010. *Staphylococcus aureus* mastitis: what we need to know to control them. *Isr J Vet Med*, 65(3): 93-99.

Zecconi, A., Cesaris, L., Liandris, E., Dapra, V., & Piccinini, R. 2006. Role of several *Staphylococcus aureus* virulence factors on the inflammatory response in bovine mammary gland. *Microbial pathogenesis*, 40(4): 177-183.

Zeinhom, M. M., & Abdel-Latef, G. K. 2014. Public health risk of some milk borne pathogens. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3): 209-215.

Zhang, S., & Maddox, C. W. 2000. Cytotoxic activity of coagulase-negative staphylococci in bovine mastitis. *Infection and immunity*, 68(3): 1102-1108.

Zschöck, M., Nessler, A., & Sudarwanto, I. 2005. Evaluation of six commercial identification kits for the identification of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Journal of applied microbiology*, 98(2): 450-455.

Zuniga, E., Melville, P. A., Saidenberg, A. B., Laes, M. A., Gonsales, F. F., Salaberry, S. R., Gregori, F., Brandão, P. E., dos Santos, F. G., & Lincopan, N. E. 2015. Occurrence of genes coding for MSCRAMM and biofilm-associated protein Bap in *Staphylococcus* spp. isolated from bovine subclinical mastitis and relationship with somatic cell counts. *Microbial pathogenesis*, 89: 1-6.



## Annexe B : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.* (En médecine vétérinaire)

Antibiotiques testés	Code	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
			R	I	S	R	I	S
Pénicilline	PG	10UI	≤28	-	≥29	≥0,25	-	≤0,12
Amoxicilline+ Acide clavulanique	AMC	20/10 µg	≤19	-	≥20	≥8/4	-	≤4/2
Oxacilline <i>S. aureus</i> S.C.N	OX	1 µg 1 µg	≤10 ≤17	11-12 -	≥13 ≥18	≥4 ≥0,5	-	≤2 ≤0,25
Céfoxitine** <i>S. aureus</i>	FOX	30 µg	≤21	-	≥22	≥8	-	≤4
Erythromycine	E	15 µg	≤13	14-22	≥23	≥8	1-4	≤0,5
Néomycine	N	30 µg	≤13	14-17	≥18	≥64	32	≤16
Gentamicine*	Gm	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Enrofloxacin	ENR	5 µg	≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0,5
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	SXT	1,25/23,75µg	≤10	11-15	≥16	≥4/76	-	≤2/38
Tétracyclines	Te	30 µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4
Vancomycine**	Va	30 µg	-	-	≥15	≥16	4 - 8	≤2
Bacitracine	B	130 µg	<15	-	≥15	≥2	-	<2
Clindamycine	Cm	2 µg	<14	15-20	≥21	≥4	1-2	≤0,5

\* Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiologie surveillance \*\* Antibiotique testé seulement pour la recherche de la méticilline.

Pour la mettre en évidence de la résistance à la méticilline, le CLSI recommande dans son communiqué de février 2008 de dépister cette résistance à l'aide d'un disque de céfoxitine 30 µg (FOX).

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

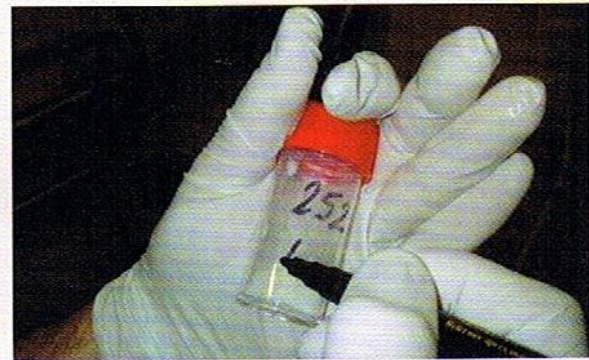
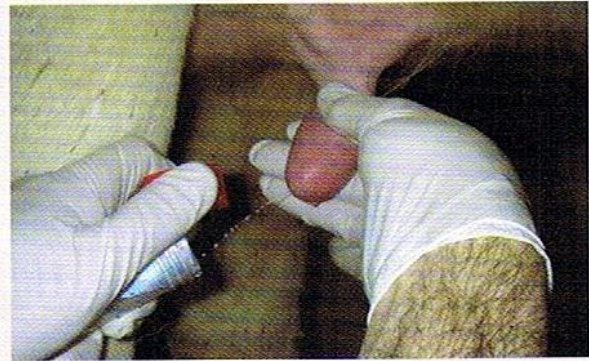
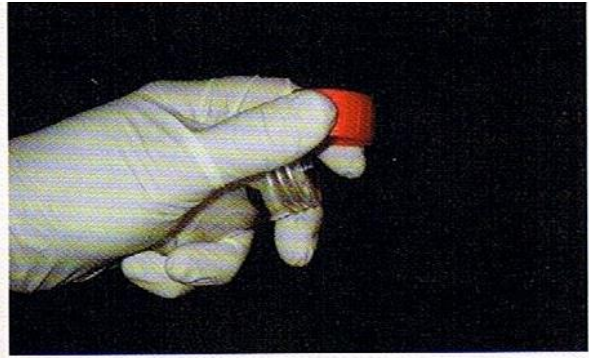
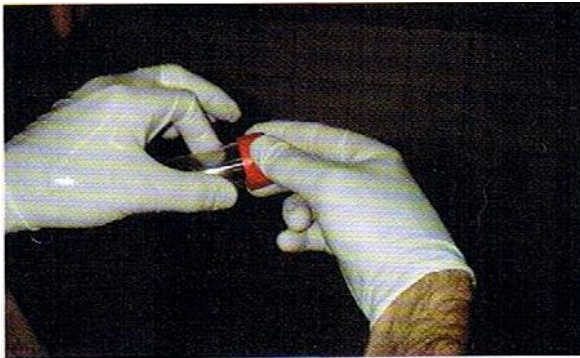
---

**Annexe C : Caractéristiques des souches de références utilisées dans ce travail**

Souches de références	Caractéristiques et utilisations
Staphylococcus aureus ATCC 25923 Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 Escherichia coli ATCC 25922	Contrôle de qualité de l'antibiogramme
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Sensible à la pénicilline
Staphylococcus aureus ATCC 43300	Résistante à la pénicilline
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 <i>S. aureus</i> ATCC-1026 (cefoxitin screen)	Contrôle de qualité interne de l'automate Vitek 2

---

**Annexe D : Technique de prélèvement de lait**

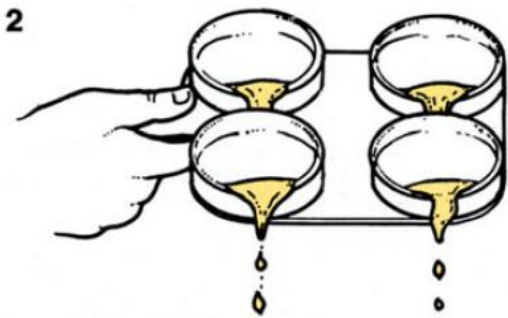




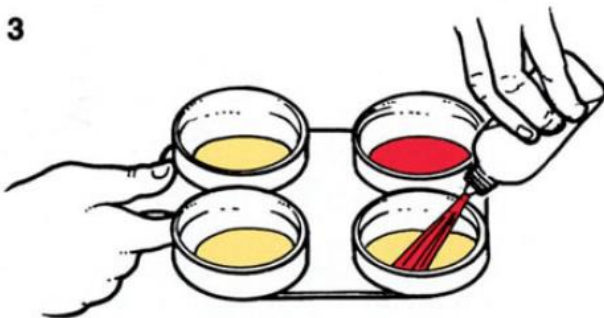
# Annexe E : La réalisation du test de mammite de Californie (CMT)



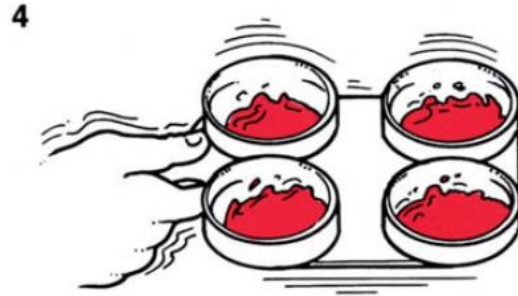
1 Foremilk is discarded and one or two squirts of milk are drawn from each quarter into a paddle dish.



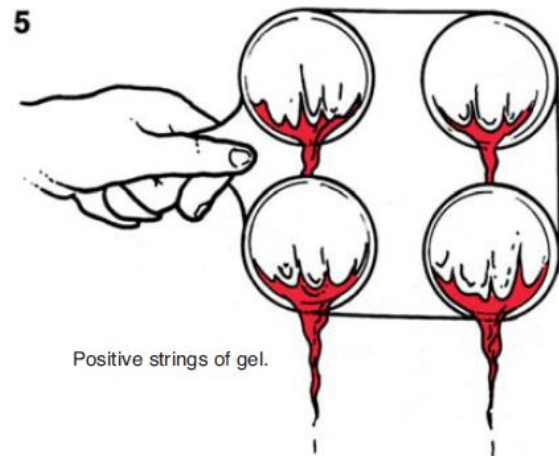
2 Excess milk is discarded.



3 An equal volume of CMT reagent is added to the milk.



4 The milk and the reagent are mixed.



5 Positive strings of gel.

Solutions are examined for the presence of a 'gel' or 'slime' reaction: gelatinous 'strings' indicate a high cell count quarter.

