

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République algérienne démocratique et populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب  
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib  
Faculté des Sciences et de Technologie  
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes  
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Microbiologie Appliquée  
Thème

**Contribution à l'étude des mammites subcliniques dues à  
*Staphylococcus aureus* chez la vache laitière dans la région  
d'Ain Témouchent**

**Présenté Par :**

- 1) Mlle BOUZOUINA Imane
- 2) Mlle HADDOU Bouchra

**Devant le jury composé de :**

Dr. ZIANE Mohammed	M C A UAT.B.B (Ain Témouchent)	Président
Dr. KHALFA Ali	M C B UAT.B.B (Ain Témouchent)	Examineur
Dr. BOUAMRA Mohammed	M C A UAT.B.B (Ain Témouchent)	Encadrant

*Année Universitaire 2021/2022*

## **Remerciements**

*Je remercie Dieu le tout puissant qui m'a donné la force, la patience ainsi que le courage afin de parvenir à achever ce travail.*

*En guise de reconnaissances, je remercie toutes les personnes qui, par leurs conseils, leur collaboration ou leur soutien moral et leur amitié ont contribué à la réalisation de ce mémoire :*

*Mr BOUAMRA Mohammed, M C A à l'UAT.B.B (Ain Témouchent) qui a accepté d'être mon directeur de mémoire, de m'avoir dirigé avec fermeté et gentillesse tout le long du travail ; avec ses suggestions pertinentes et ses encouragements, qui m'ont été d'une grande utilité, dieu le garde.*

*Mr ZIANE Mohammed, M C A à l'UAT.B.B (Ain Témouchent) de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ce mémoire .Hommages respectueux.*

*Mr KHALFA Ali, M C B à l'UAT.B.B (Ain Témouchent) pour l'honneur qui m'a fait en acceptant d'être membre de jury. Sincères remerciements.*

*On adresse également nos sincères reconnaissances à tous les enseignants du département des Sciences de la Nature et de la Vie et du département agroalimentaire qui ont participé à notre formation durant ce cursus.*

*En fin, nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous ceux qui nous ont soutenues physiquement ou moralement, qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## ***Dédicaces***

*A mes très chers parents*

*Aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur la gratitude et l'amour que je vous porte*

*Je mets entre vos mains, le fruit de longue années d'étude et longue jours d'apprentissage*

*Chaque ligne de ce travail, chaque mot et chaque lettre vous exprime la reconnaissance, le respect, l'estime et le merci d'être mes parents*

*J'espère avoir répandu aux espoirs que vous avez fondés en moi, et réalisés aujourd'hui l'un de vos rêves, Qu'Allah vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie afin que vous demeuriez le flambeau illuminant mon chemin merci infiniment*

*A ma deuxième maman KHADIDJA et ma sœur IKRAM, mes frères NADIR et FOUZI, source d'espoir et de motivation*

*A toutes ma familles ; mes oncles, mes tantes, mes cousins, mes cousines et mes petites nièces AMINA LOUJAIN et MALIKA FARAH*

*A tous mes amies, et particulièrement BELHADRI RAHMOUNA, HAMADI ASMAA , MECHERI SARRA et M'LILI SHAHRAZED, source de bonheur et de joie*

***BOUCHRA***

# Dédicace

*Le didie cet ouvrage*

*A mes très chers parents qui m'a soutenu et encouragé durant ces années  
d'études.*

*A mes frères sofaine et kader et mes soeur amina et noura et amel et ma tante  
rahmouna et ma famille et ceux qu'ont partagé avec moi tous les moments  
d'émotion lors de la réalisation de ce travail. ils m'ont chaleureusement supporté  
et en courgé tout a long mon parcours.*

*A mes cousine khadja et nariman et a mes proches amis ahlem et amina et ceux  
qui me donnent de l'amor et de la vivacite.*

*A tous mes amis qu'ont toujours encourgé et a qui souhaite plus de sucées.*

**IMANE**

## **TABLE DES MATIÈRES**

REMERCIEMENTS

DÉDICACES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INTRODUCTION.....	1
<b>PAPARTIE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>4</b>
1 Généralités sur les mammites .....	3
1.1 Définition.....	3
1.2 Classification des mammites .....	3
1.2.1 Les mammites subcliniques .....	3
1.2.2 Les mammites cliniques .....	3
1.3 Les mécanismes de défense de la mamelle .....	4
1.3.1 Défense anatomique .....	4
1.3.2 Défense immunitaire .....	4
2 Étiologie des mammites des bovines .....	7
2.1 La pathogenèse majeure .....	7
2.2 Les pathogènes mineurs.....	8
2.3 Les pathogènes occasionnels .....	8
3 Les mammites à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
3.1 Caractéristiques général de l'agent pathogènes.....	8
3.1.1 Découvert de l'espèce et taxonomie.....	8
3.1.2 Caractéristiques bactériologique .....	9
3.1.2.1 Caractère morphologique .....	9
3.1.2.2 Caractères cultureux .....	10
3.1.2.3 Caractère biochimiques .....	11
3.1.2.4 Caractères génomique.....	11
4 Épidémiologie des mammites a <i>S. aureus</i> .....	12
4.1 Source de contamination et transmission .....	12
4.2 Facteurs de risque de mammite subclinique.....	13
5 Pathogénie des mammites à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
5.1 Adhésion aux cellules épithéliales mammaires .....	14

5.2	Internalisation de <i>S. aureus</i> dans les cellules épithéliales du tissu mammaire.....	15
5.3	Dissémination dans les tissus adjacents et persistance .....	16
6	La repense immunitaire a <i>S. aureus</i> dans la glande mammaire .....	17
7	Importance des mammites à <i>S. aureus</i> .....	18
7.1	Conséquence économique des mammites .....	18
7.2	Impact des mammites sur la santé humaine .....	19
7.3	Conséquence des mammites sur la qualité du lait .....	19
8	Diagnostic des mammites .....	19
8.1	Le Taux Cellulaire du Tank (TCT).....	19
8.2	Le Comptage Cellulaire Somatique Individuelle (CCSI).....	20
8.3	Le Californian Mastitis Test (CMT).....	20
8.4	Mesure de la conductivité électrique du lait.....	21
9	Méthodes de prophylaxie et de contrôle .....	22
9.1	Mesures préventives .....	22
9.2	Antibiothérapie .....	23
9.3	Résistances aux antibiotiques .....	24
9.3.1	Différents types de résistance .....	24
9.3.1.1	Résistances naturelles .....	25
9.3.1.2	Résistances acquises .....	25
9.3.1.3	Mécanisme de résistance aux antibiotiques.....	25
9.3.1.4	Résistance de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques .....	26
	<b>PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE</b> .....	30
1	Objectifs et méthodologie .....	28
1.1	Objectifs de l'étude.....	28
1.2	Présentation de la de la région d'étude.....	28
1.3	Échantillonnage et la collecte des informations .....	29
1.4	Dépistage des mammites subcliniques .....	29
1.4.1	Principe et technique de réalisation.....	29
1.4.2	Lecture et interprétation .....	30
1.5	Prélèvements et analyse microbiologique .....	31
1.5.1	Prélèvement des échantillons de lait .....	31
1.5.2	Analyse microbiologique .....	32
1.5.2.1	Enrichissement.....	33

1.5.2.2	L'isolement.....	33
1.5.3	Identification des souches <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
1.5.3.1	Identification morphologique.....	34
1.5.3.1.1	Examen macroscopique.....	34
1.5.3.1.2	Examen microscopique.....	34
1.5.3.1.3	Examen direct à l'état frais.....	34
1.5.3.1.4	Test de la coloration de Gram.....	35
1.5.3.2	Identification biochimique.....	35
1.5.3.2.1	Test de catalase.....	35
1.5.3.2.2	Test de coagulas.....	36
1.5.4	Antibiogramme des souches <i>S aureus</i> isolés.....	36
1.5.4.1	Préparation de l'inoculum bactérien.....	36
1.5.4.2	Ensemencement, application des disques et incubation.....	37
1.5.4.3	Lecture et Interprétation des résultats.....	37
2	Résultats et discussion.....	38
2.1	Analyse descriptive des vaches laitières suivies.....	38
2.1.1	Répartition des vaches selon la parité.....	38
2.1.2	Répartition des vaches selon la race.....	38
2.1.3	Répartition des vaches selon le stade de lactation.....	39
2.2	Résultats du CMT.....	39
2.2.1	Effet du stade de lactation sur les résultats du CMT.....	40
2.2.2	Effet du numéro de lactation sur les résultats du CMT.....	40
2.2.3	Effet de la race sur les résultats du CMT.....	41
3	Résultats de l'examen bactériologique.....	42
3.1	Prévalence de <i>staphylococcus aureus</i> isolées lors de mammites subcliniques.....	42
4	Résultats de l'antibiogramme.....	44
5	Discussion.....	45
	<b>CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS</b> .....	51

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : liste des cellules du système immunitaire et de leurs principales .....	5
Tableau 2: Interprétation du Leucocytest selon les indications accompagnant le réactif .....	31
Tableau 3: Profil de sensibilité des S aureus vis à vis de 10 antibiotiques .....	44

## **LISTE DES FIGURES**

Figure 1: schéma de la glande mammaire bovine montrant les facteurs anatomique le plus importants qui agissent comme des barrière de défense (oviedo-boyos al.,2007).....	6
Figure 2: Observation de <i>Staphylococcus aureus</i> . (A) Isolement de colonies dorées de <i>S. aureus</i> sur gélose BHI (Bouillon cœur-cervelle). (B) Observation d'une coloration de Gram au microscope (Joshi et al., 2014). .....	10
Figure 3: Cycle infectieux présumé de <i>S. aureus</i> dans la glande mammaire (d'après Sinha et al., 2012).....	14
Figure 4: Pathogénie des mammites (Viguier et al., 2009).....	15
Figure 5 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques mis en place par les bactéries (adaptée de Muylaert A., et al., 2012).....	26
Figure 6: Situation géographique de la wilaya d'Ain Témouchent .....	29
Figure 7: Technique de réalisation du Californian Mastitis Test (CMT).....	30
Figure 8: Les échantillons du lait .....	32
Figure 9: Réalisation de l'enrichissement. ....	33
Figure 10: Préparation de l'inoculum bactérien .....	37
Figure 11: Répartition des vaches selon la parité.....	38
Figure 12: Répartition des vaches selon la race .....	38
Figure 13: Répartition des vaches selon le stade de lactation .....	39
Figure 14: Résultats du CMT par rapport aux vaches examinées.....	39
Figure 15: Effet du stade de lactation sur les résultats du CMT .....	40
Figure 16: Effet du numéro de lactation sur les résultats du CMT .....	41
Figure 17: Effet de la race sur les résultats du CMT.....	41
Figure 18: Image microscopique des <i>S.aureus</i> après la coloration, de gram.....	42
Figure 19: Résultat de test de coagulase .....	42
Figure 20: Résultat de test de catalase .....	43
Figure 21: Prévalence de staphylococcus isolées lors de mammites subcliniques .....	43
Figure 22: Prévalence de <i>staphylococcus aureus</i> isolées lors de mammites subclinique.....	43
Figure 23: Pourcentage de sensibilité et de résistance des <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques .....	45

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

**SCN** : *Staphylocoques* a coagulase négative.

**SC** : Cellule somatique.

**BHI** : Brain heart infusion broth.

**CAP** : Cellule présentatrices d'antigènes

**BP** : Baid parker.

**MSCRAMM** : Microbial surface component recognizing adhesive matrix molécules.

**FGBP** : *Fibrinogène*.

**CLF** : Les clumping factor.

**MH** : Muller hinton.

**CMT** : Test de mammite de californie.

**SCV** : Small colony variant.

**TCT** : Le taux cellulaire.

**SARM** : *S. aureus* résistants a la métilcilline.

**NMC** : National mastitis council.

**QPG** : Quartier postérieur gauche.

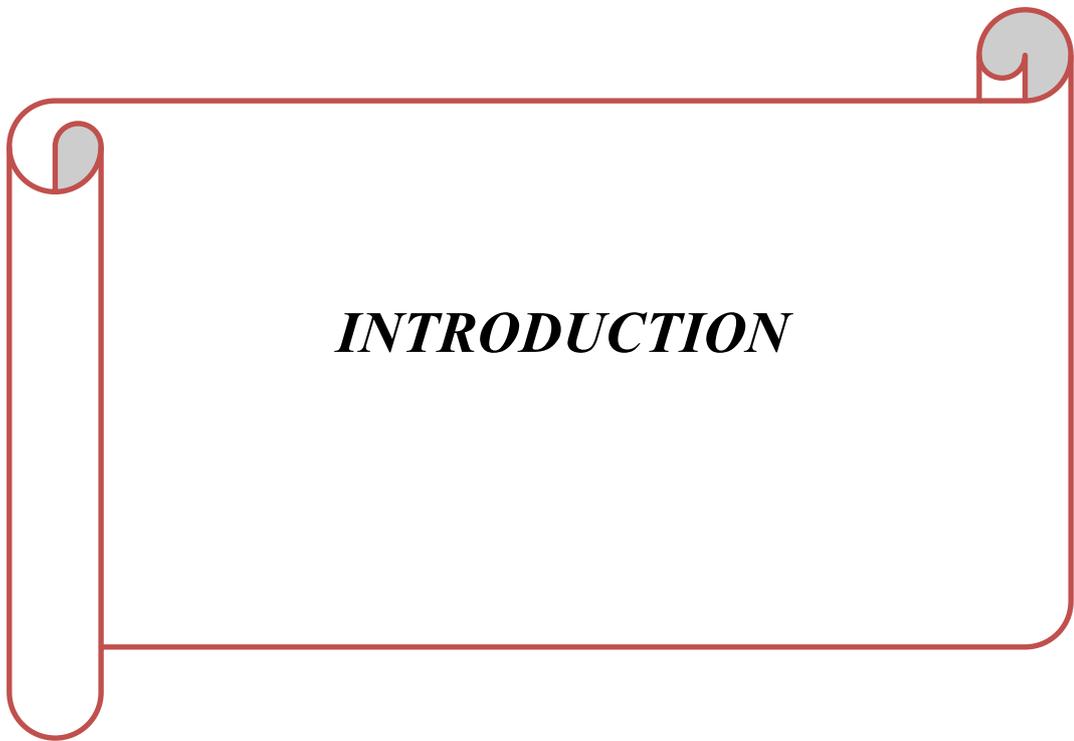
**CCSI** : Le comptage cellulaire somatique individuelle.

**QAG** : Quartier antérieur gauche.

**QPD** : Quartier postérieur droit.

**QAD**: Quartier antérieur droit.

**FNBG** : Fibronectine.



***INTRODUCTION***

## **INTRODUCTION**

L'Algérie est considérée comme étant le premier consommateur du lait au Maghreb et le deuxième importateur de ce produit et de ces dérivés au monde. Conséquence de plusieurs facteurs, dont principalement la baisse de l'offre du lait en poudre et la flambée des prix sur le marché international, la hausse des prix du lait en poudre sur le marché algérien est inévitable. L'augmentation du niveau de la production laitière et l'amélioration de la qualité hygiénique du lait produit sont, entre autres, de grands défis auxquels sont confrontés les élevages bovins laitiers. Ces défis ne sauraient être relevés sans de meilleures connaissances des agents étiologiques impliqués dans les mammites, mais aussi par l'élaboration des stratégies adéquates de lutte et de prévention. En effet, Les mammites subcliniques sont un véritable fléau dans nos élevages bovins laitiers. Elle se définit comme étant l'inflammation de la glande mammaire qui est principalement causée par une infection d'origine bactérienne. Elle peut aussi être due à une infection d'origine virale, ou fongique ou encore résulter de changements physiologiques, d'un traumatisme ou d'une lésion (**Oviedo-boyso et al., 2007**).

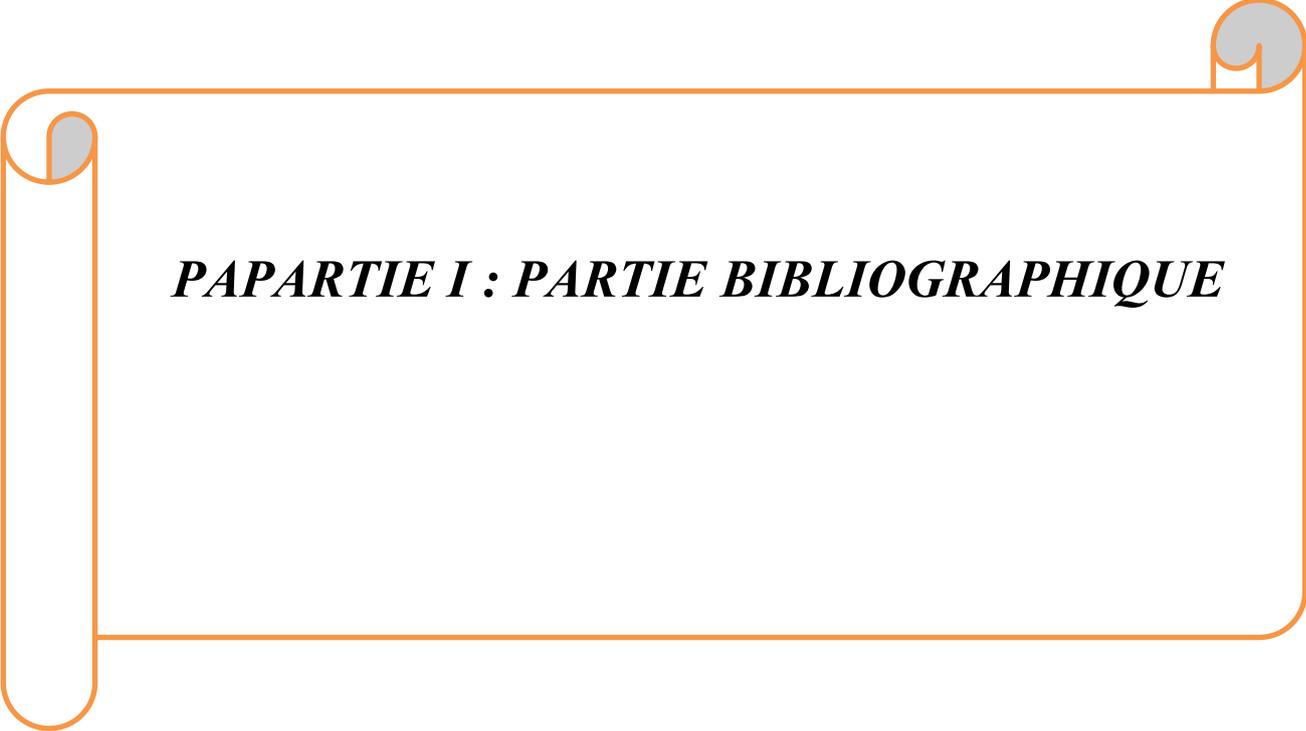
Ils représentent une entrave à la production au niveau des élevages spécialisés dans la production laitière à travers le monde. La mammite est une des maladies qui causent beaucoup de pertes économiques dans les élevages à travers le monde, non seulement liées à la baisse de la production du lait et aux coûts des traitements des animaux malades, mais aussi aux pénalités dues à une élévation du nombre des cellules somatiques, voire même à l'élimination des vaches incurables dans les cas les plus extrêmes. Cette notion de pertes économiques est cependant difficile à objectiver dans les conditions actuelles d'élevage au Algérie. De nos jours, les principales bactéries impliquées dans l'infection de la glande mammaire ont été répertoriées dans les pays développés. Dans ces différents pays, plusieurs études ont été consacrées à cette maladie, telle que l'évaluation du coût de la maladie, la caractérisation génétique des souches responsables de l'infection, la définition des différents modèles épidémiologiques de la maladie, ou encore l'évaluation de l'efficacité des programmes de contrôle mis en place. Si ces notions sont déjà connues et en perpétuelle actualisation dans ces pays, il n'en est pas de même dans certains pays en voie de développement comme le Algérie, où les études qui ont porté sur les mammites sont encore à un stade embryonnaire, car elles se limitent essentiellement à la reconnaissance des différents agents étiologiques de la maladie.

La détermination exacte de l'identité des bactéries responsables de la mammite est tout aussi primordiale qu'importante dans l'orientation du choix thérapeutique, tout comme dans

le contrôle de l'infection dans un élevage (**Belschner et al., 1996**), d'autant plus qu'il n'y a pas une bonne corrélation entre les signes cliniques et la nature du germe impliqué (**Bradley et al., 2000**). Les études épidémiologiques menées sur les mammites ont apporté beaucoup de connaissances dans la pathologie de la glande mammaire. Ainsi, cela a permis notamment de comprendre les facteurs de risque, le mode d'évolution et de transmission de la maladie.

*S. aureus* est un des trois principaux pathogènes responsables de mammites, avec *Escherichia coli* et *Streptococcus uberis* chez les bovins (**Keane et al., 2013**). Ceci est observable dans toutes les régions productrices de lait, même chez celles qui ont mis en place des programmes stricts de lutte contre les mammites. L'incidence des mammites staphylococciques varie selon les pays et régions considérés et selon les hôtes. Chez les vaches laitières, *S. aureus* est responsable de 5 à 30% des mammites cliniques et 5 à 10% des mammites subcliniques. L'objectif général visé dans ce travail est de faire l'inventaire des principaux facteurs impliqués dans les mammites au niveau des élevages de la wilaya d'Ain-Temouchent et de procéder à la prévalence des mammites subclinique due aux *S. aureus*, afin de proposer une stratégie efficace de prévention et de contrôle.





***PAPARTIE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE***

## **1 Généralités sur les mammites**

### **1.1 Définition**

La mammite est une inflammation de la glande mammaire touchant un ou plusieurs quartiers de la mamelle. Elle est principalement causée par une infection d'origine bactérienne. Elle peut aussi être due à une infection d'origine virale, ou fongique ou encore résulter de changements physiologiques, d'un traumatisme (**Oviedo-boyso et al., 2007**). Comme tout phénomène infectieux, une mammite fait intervenir trois acteurs : la bactérie, l'hôte (et plus précisément ses mécanismes de défense) et l'environnement. 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**). Cette sévérité dépend notamment de la nature de l'agent pathogène, de l'âge et de la race de l'animal, de son statut immunitaire ou encore de son stade de lactation (**Srivastava et al., 2015**).

### **1.2 Classification des mammites**

#### **1.2.1 Les mammites subcliniques**

Les mammites subcliniques sont insidieuses et caractérisées par une absence de signes cliniques. L'inflammation due à l'infection s'accompagne essentiellement d'un afflux de cellules somatiques dans le lait du quartier infecté, particulièrement les polynucléaires neutrophiles, et par une modification de la composition chimique du lait (baisse des taux de caséine et de lactose, augmentation des taux d'électrolytes). (**Desert et Riou, 2014**). Une vache est considérée comme saine (c'est-à-dire ne présentant pas de mammite) lorsque la concentration en cellules somatiques individuelles (CCSI) du lait composite (mélange issu des quatre quartiers) est inférieure à 300 000 cellules/ml (**Roussel et al., 2011**).

#### **1.2.2 Les mammites cliniques**

Les mammites cliniques se caractérisent par la présence des signes cliniques fonctionnels et locaux, voire généraux. Les signes cliniques fonctionnels se traduisent par une modification de la sécrétion de la glande mammaire matérialisée par un changement de l'aspect du lait (grumeaux, sang ou caillots sanguins, pus dans le lait) et de la composition du lait. Les signes locaux sont ceux observés lors d'un processus inflammatoire classique à savoir : rougeur, tuméfaction, chaleur et douleur du quartier atteint. Et enfin, les signes

cliniques généraux se traduisent par de l'abattement, de l'anorexie, de l'hyperthermie, une arumination, une déshydratation et des troubles locomoteurs. Les infections mammaires cliniques peuvent être distinguées selon la sévérité de ces signes cliniques (**Rainard et Gilbert, 2010, Durel et al., 2011**).

### **1.3 Les mécanismes de défense de la mamelle**

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

#### **1.3.1 Défense anatomique**

L'anatomie 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**). Pour causer des infections mammaires, les bactéries doivent pénétrer dans la glande mammaire via le canal du trayon. En suit, 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, qui constitue une barrière physique supplémentaire, empêchant la migration des bactéries vers la citerne de la glande mammaire. Certaines protéines cationiques associées à la kératine peuvent se lier à des micro-organismes pathogènes des mammites, et augmenter leur sensibilité aux changements d'osmolarité. Outre, les acides gras estérifiés et non estérifiés associés à la kératine possèdent une fonction bactériostatique (**Oviedo-Boyso et al., 2007, Viguier et al., 2009**).

#### **1.3.2 Défense immunitaire**

Outre les barrières physiques, l'immunité de l'hôte assure la seconde ligne de défense. L'immunité de l'hôte assure la seconde ligne de défense. Elle peut être divisée en deux types : immunité innée et acquise. Les défenses immunitaires sont assurées par des cellules produites par la moelle osseuse, les leucocytes (Tableau 2). Même en absence d'infection, celles-ci sont présentes dans la glande à des concentrations entre 50.000 à 200.000 cellules par millilitre de lait (**Sordillo et al., 1997; Bradley et al., 2002**). L'immunité innée, ou non spécifique, est

particulièrement importante lors d'une première exposition à un agent pathogène. La réponse immunitaire innée est principalement médiée par les macrophages, neutrophiles, les « Natural Killer » ainsi que d'autres facteurs solubles. Si malgré cette immunité innée le pathogène n'est pas éliminé, l'immunité acquise (ou spécifique) sera induite. Les réponses non spécifiques sont déjà présentes et rapidement activées au site d'infection. Ce type de réponse immunitaire reconnaît spécifiquement des déterminants antigéniques d'un pathogène afin de l'éliminer sélectivement. La réponse immunitaire acquise est principalement médiée par les anticorps (immunité humorale), les macrophages (cellules présentatrices d'antigènes ; CPA) et les cellules lymphocytaires (Rainard et Riollet, 2006).

**Tableau 1 : liste des cellules du système immunitaire et de leurs principales**

Type de cellules		Rôle principaux
 Cellule dendritique		Phagocytose / opsonisation Synthèse de cytokines (médiateur de l'inflammation) Cellules présentatrices d'antigènes
 Monocytes - Macrophage		Phagocytose / opsonisation Synthèse de cytokines (médiateur de l'inflammation) Cellules Présentatrices d'Antigènes
 Granulocytes (=Polynucléaire)	Neutrophiles	Phagocytose Destruction des agents pathogènes Homéostasie de l'inflammation Synthèse de cytokines (médiateur de l'inflammation)
	Basophiles	Synthèse d'histamine et d'héparine Activation de l'inflammation Action anti-allergique Perméabilité tissulaire
	Eosinophile	Action antiparasitaire Activation de l'inflammation Action anti-allergique Perméabilité tissulaire
 Mastocytes		Sécrétion de sérotonine, histamine et héparine Action anti-allergique Synthèse de cytokines
 Lymphocytes	B	<b>Immunité humorale</b> Production d'immunoglobuline (anticorps) Plasmocytes (synthèse d'anticorps spécifique à l'opsonisation), cellules B à mémoire (mémorisation des antigènes)
	T	<b>Immunité cellulaire</b> Action cytotoxique (destruction des cellules infectées), auxiliaire (activation de cellules immunitaires), ou suppresseur (retour à l'état basal de l'inflammation)
	Cellule NK	<b>Cellules tueuses naturelles</b> Lyse des cellules du non-soi sans reconnaissance spécifique d'antigène Libération de perforine et granzyme

La défense de la glande mammaire nécessite une action coordonnée et interactive des deux types de réponses immunitaires. Les macrophages sont les cellules dominantes dans le lait sain (Rémy *et al.*, 2010 ; Loir et Gautier., 2010). Leur rôle est de détecter les flores indésirables et de recruter les neutrophiles du sang vers la glande mammaire via la libération de cytokines (Paape *et al.*, 2003) (Tableau 2). Lors d'une infection, la proportion de macrophages diminue mais assure le rôle de présentation d'antigènes. Les neutrophiles sont donc activement transférés du sang vers la citerne dès le début de l'inflammation et ils représentent jusqu'à 90 % des cellules somatiques lors d'une mammite (Paape et Wergin, 1977 ; Paape *et al.*, 2000). Si les pathogènes persistent, les lymphocytes B et T seront également recrutés. Les lymphocytes B assurent (immunité humorale). Les lymphocytes T assurent une immunité cellulaire. Les lymphocytes T4 (LT4, ou « helper ») sont activés via les CPA et orientent la réponse vers une immunité humorale ou cellulaire. Les LT8, cellules cytotoxiques, assurent l'immunité cellulaire proprement dite (Oviedo-Boyso *et al.*, 2007; Rainard et Riollot, 2006. Rainard et Gilbert, 2010).

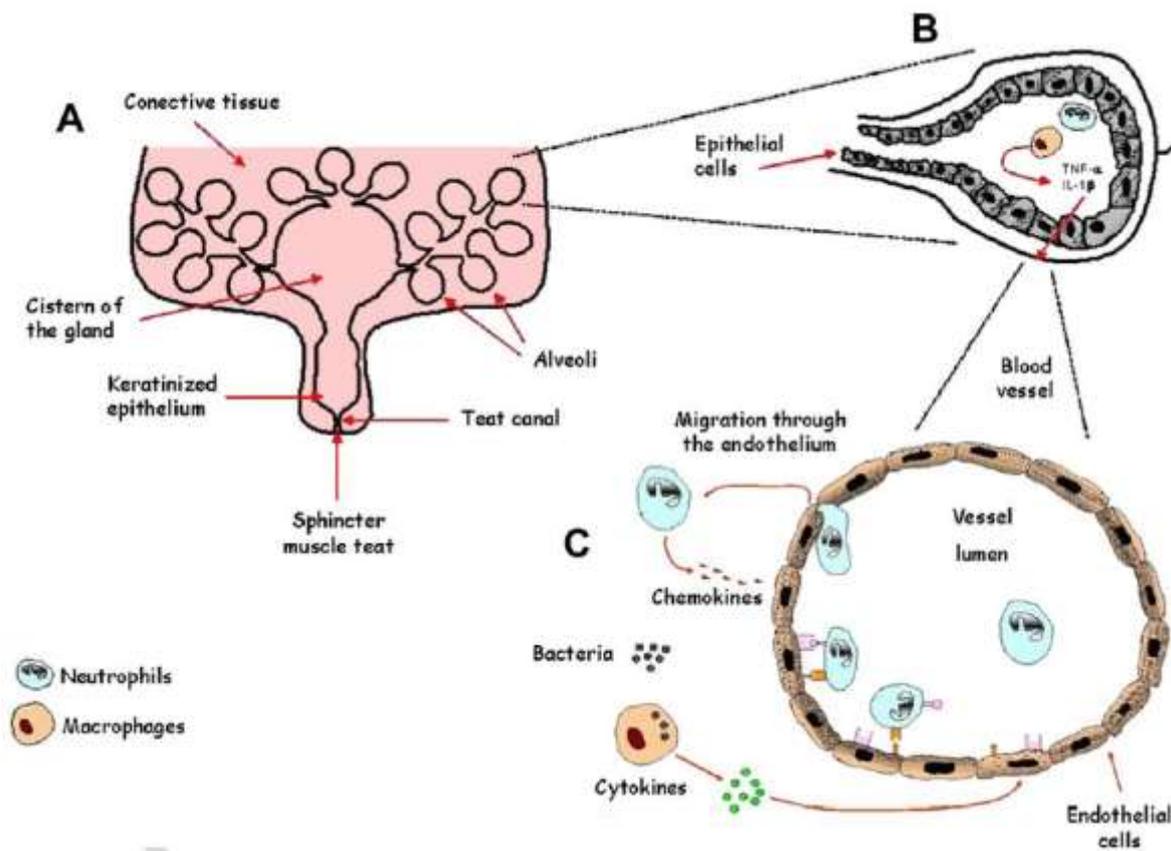


Figure 1: schéma de la glande mammaire bovine montrant les facteurs anatomique le plus importants qui agissent comme des barrière de défense (oviedo-boyos al.,2007).

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.

## **2 Étiologie des mammites des bovines**

La prévalence et l'incidence des pathogènes impliquée dans des déférent des mammites des bovines il existe une multitude de microorganismes responsable des mammites notamment chez les bovines. Les microorganismes causent des mammites peuvent être classe on deux grandes catégories les pathogènes majeurs les pathogènes mineurs

### **2.1 La pathogenèse majeure**

Au sein de la famille des familles des pathogènes majeurs implique dans les mammites bovines on distingue les mammites contagieuse (réservoir mammaire) des mammites environnementales (réservoir environnemental : litière, sol)

Les pathogènes contagieux sont essentiellement des bactéries capables de proliférer et survivre au niveau de la peau, des trayons et des pis. ces pathogénies peuvent se transmettre a d'autres quartiers et d'autres animaux les principaux représentants de cette catégorie sont *S.aureus*, *streptococcies agalactiae* et *streptococcus uberis*. (**oviido-boyso et al,2007, bidaud et al,2007, bradley et al., 2007**). Les pathogènes environnementaux sont présents dans l'environnement de l'animal (*S. uberis* est à la fois un pathogène avec un réservoir environnemental et mammaire) (**OviidoBoyso et al., 2007**). Ces pathogènes sont considérés comme opportunistes. Ils pénètrent laglande via le canal du trayon et induisent une inflammation mais sont souvent vite éliminés. De nombreux microorganismes peuvent être considérés comme pathogènes environnementaux mais les principaux *coli* .représentants sont *Streptococcus uberis* et *Escherichiacoli* (**Bradley et al., 2002**).

## **2.2 Les pathogènes mineurs**

On distingue des pathogènes majeurs par la prévalence et par l'incidence des mammites qu'ils induisent. Ils causent généralement peu de problèmes et sont majoritairement des bactéries commensales de la peau et des poils. Cette catégorie regroupe tout l'ensemble des *Staphylocoques* à Coagulase Négative (SCN), et plus fréquemment *Staphylococcus chromogènes* et *Staphylocoques heparis* (Pyorala et Taponen, 2009 ; Almeida et Oliver, 2001). On peut également retrouver *Pseudomonas sp.*, *Corynebacteriumbovis*, etc... (Khan et Khan, 2006). Ces pathogènes ne causent généralement pas de mammites cliniques.

## **2.3 Les pathogènes occasionnels**

La majorité des cas de mammites résultent d'une infection bactérienne impliquant les espèces citées ci-dessus. Cependant de nombreux autres microorganismes peuvent pénétrer la glande mammaire et déclencher une inflammation et donc une mammite. Parmi ces pathogènes occasionnels se retrouvent des bactéries mais aussi des virus et certaines levures. Les pathogènes occasionnels les mieux identifiés sont les mycoplasmes, qui peuvent engendrer des mammites cliniques ou subcliniques (González et Wilson, 2003).

## **3 Les mammites à *Staphylococcus aureus***

Les mammites représentent un défi important en élevage laitier. La mammite subclinique est la forme prédominante dans l'apparition et les *Staphylococcus* sont les principaux agents étiologiques en raison de la fréquence et la large diffusion (Zuniga et al. 2015). 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).

### **3.1 Caractéristiques général de l'agent pathogène**

#### **3.1.1 Découverte de l'espèce et taxonomie**

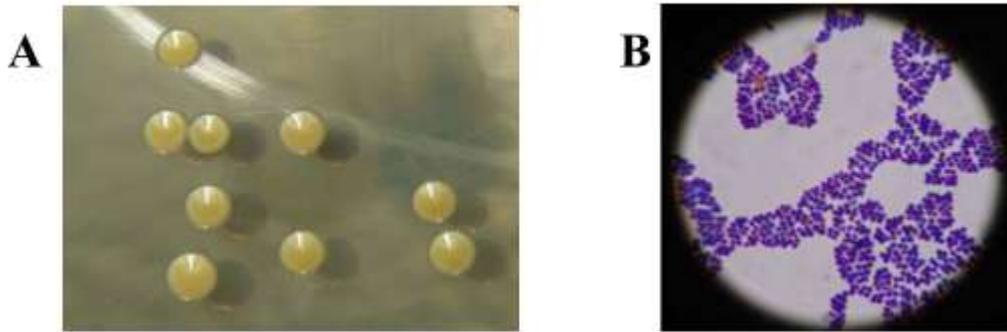
*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) est l'un des premiers agents pathogènes bactériens à avoir été décrit à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle. Tout d'abord, en 1878, Robert Koch fut le premier à l'observer grâce à l'étude de pus de furoncles au microscope lui révélant des « amas de grains », suivie par Louis Pasteur deux ans plus tard (Loir., et al., 2010). Cependant, c'est à Sir Alexander Ogston que l'on doit l'isolement de la bactérie après l'analyse microscopique d'une centaine de prélèvements de pus provenant d'abcès humains (Ogston, 1882 ;

**Krakaeur et al., 2016**). Il réussit à reproduire l'infection chez l'animal et, devant l'observation de microcoques s'agrégeant en amas comme des œufs de poissons, leur donna le nom de *Staphylococcus* (**Newson, 2008**). Ce nom fut ensuite accepté par Anton Rosenbach, qui fut le premier à cultiver le staphylocoque in vitro sur milieu solide lui permettant d'en différencier deux types en *Staphylococcus pyogenes aureus* (du latin aurum pour or) et blanche pour le deuxième appelé *Staphylococcus pyogenes albus* (du latin albus pour blanc) maintenant appelé *Staphylococcus epidermidis* (**Newson, 2008**). D'un point de vue taxonomique, cette bactérie appartient au règne des Procaryotes, au Phylum des Firmicutes, à la classe des Bacilli et à l'ordre des Bacillales. Dans la famille des Staphylococaceae qu'elle partage avec quatre genres moins connus (*Gemella*, *Jeotgalicoccus*, *Macrococcus* et *Salinicoccus*) elle représente le genre le plus important (**Loir., et al., 2010**). Actuellement, le genre *Staphylococcus* regroupe une cinquantaine d'espèces identifiées principalement chez l'animal (18 chez l'Homme), dont les 4 principales chez l'Homme sont *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus hyicus* (**Pellerin et al., 2010**).

### **3.1.2 Caractéristiques bactériologique**

#### **3.1.2.1 Caractère morphologique**

*Les staphylocoques* sont des bactéries à Gram positif, c'est-à-dire qu'ils possèdent une paroi cellulaire composée de plusieurs couches de peptidoglycanes empilées sur la membrane plasmique, représentant chez cette souche 50% en poids des constituants de cette paroi (**Li., et al., 2015**). A l'échelle macroscopique, les colonies apparaissent lisses, rondes, opaques et d'un diamètre de 1-3mm. Leur couleur dorée caractéristique (Figure 2-A) est due à la synthèse d'un pigment caroténoïde, *la staphyloxanthine*. Ce pigment possède des propriétés oxydantes conférant un avantage à la bactérie dans la lutte contre les espèces réactives de l'oxygène produites par l'hôte (**Liu., et al., 2009**). A l'échelle microscopique on observe une morphologie caractéristique en forme de cocci d'environ 0,8-1µm de diamètre, regroupé en amas qualifiés de « grappe de raisins » (Figure 2-B) comme l'indique leur nom (« staphyle » signifie grappe de raisin en Grec et « coccus » signifie grain ou baie) (**fauchere et Avril, 2002 ; Guiraud et Rosec, 2004 ; Loir., et al., 2010**).



**Figure 2: Observation de *Staphylococcus aureus*. (A) Isolement de colonies dorées de *S. aureus* sur gélose BHI (Bouillon cœur-cervelle). (B) Observation d'une coloration de Gram au microscope (Joshi et al., 2014).**

### 3.1.2.2 Caractères cultureux

*Staphylocoques aureus* sont des germes peu exigeants sur le plan nutritif et tolèrent de grandes variations (Guiraud et Rosec, 2004). Elle se cultivent facilement sur milieux usuels simples en aérobie comme anaérobie dans des températures de 7 °C à 48.5 °C avec un optimal de 30 °C à 37 °C et un pH de 4.2 à 9.3 avec un optimal de 7 à 7.5 (Le Loire et al. 2003 ; Bhatia et Zahoor, 2007 ; Di Giannatale et al., 2011). Il est capable de se multiplier dans des milieux Contenant 5 à 10% de NaCl. Ces caractéristiques confèrent à *S. aureus* la capacité de coloniser une grande variété d'aliments (Bhatia et Zahoor, 2007). En milieu liquide, la culture est rapide, en quelques heures un trouble homogène puis un dépôt sont observés, il n'y a pas de production de pigment en milieu liquide (Ananthanarayan et Paniker, 2006). Sur milieux solides, Les colonies observées après 24 heures d'incubation sur gélose ordinaire sont larges (2-4 mm de diamètre) circulaires, légèrement bombées lisses, luisantes. La pigmentation des colonies peut varier du blanc au jaune ou jaune orangé (Denis et poly, 2007 ; Flandrois, 1997 ; Ananthanarayan et Paniker, 2006). Sur gélose au sang, les souches typique de *S. aureus* peuvent produire des colonies de grand diamètre que celles produites sur gélose nutritive et de couleur jaune doré, entourées d'une hémolyse bêta. *S. aureus* peut également être cultivé en milieu sélectif tel que : Le milieu Chapman, milieu gélosé hypersalé (7.5 % de Na Cl) qui contient du mannitol, il permet une culture abondante de *S. aureus* après une incubation de 24-48 heures. Les colonies sont alors entourées d'un halo jaune puisqu'elles fermentent le mannitol (Denis et Poly, 2007). Par contre, en bactériologie alimentaire pour isoler et caractériser le staphylocoque, le Milieu de Baird Parker est utilisé. Il est à base de tellurite de potassium et de jaune d'œuf. *S. aureus* s'y présente sous forme de colonies noires (réduction du tellurite) avec un halo claire Autour (protéolyse) (Ananthanarayan et Paniker, 2006 ; Denis et Poly.2007).

### **3.1.2.3 Caractère biochimiques**

*Les staphylocoques* sont des bactéries aérobies-anaérobies facultatives, immobiles, non sporulées, positives à la catalase, négatives à l'oxydase et fermentant le glucose sans gaz. Ce sont des bactéries mésophiles (croissance optimale à 37°C), neutrophiles (pH 7 optimal) et halophiles (se développent à de fortes concentrations en NaCl) (**Ananthanarayan et Paniker, 2006**). Ce dernier caractère étant mis à profit en bactériologie alimentaire pour l'isoler grâce à des milieux sélectifs (milieu de Chapman) **Loir et al., 2010**. De plus, cette bactérie possède la capacité de croître dans des conditions hostiles avec des températures de 7 à 48°C ou un pH compris entre 4 et 10 (**Valero et al., 2009**). *S. aureus* se distingue des autres membres du genre par sa capacité à produire une coagulase ce qui permet notamment son identification vis-à-vis des souches potentiellement non pathogènes. En effet cette coagulase lui permet de lutter contre les anticorps opsonisants et la phagocytose (**Couture, 1990 ; Guiraud et Rosec, 2004 ; Loir., et al., 2010**).

### **3.1.2.4 Caractères génomique**

Le génome de *S. aureus* est constitué d'un chromosome et jusqu'à trois petits plasmides circulaires. Selon les souches, environ 2700 séquences codantes sont comptées chez *S. aureus*. En plus des ARNs structurels et régulateurs, la majorité des séquences codantes sont annotées à une fonction dont beaucoup d'entre elles sont putatives sur la base d'homologie avec des protéines ou des domaines connus (**Holden et Lindsay, 2008**). Les protéines codées entrent dans l'une des multiples catégories fonctionnelles selon leur implication dans la croissance, la réplication et la survie des cellules ainsi que l'interaction avec l'hôte (Figure 1). Les constituants de l'enveloppe cellulaire occupent la plus grande partie (20,3% du total des séquences codantes), avec les protéines de liaison/transport (9,2%) ainsi que des gènes associés aux éléments génétiques mobiles (EGM) (7,2%). Le génome de *S. aureus* est formé de deux domaines fonctionnels distincts :

- ✓ La majeure partie du chromosome (75%) appelé « core » contient les gènes qui assurent le métabolisme de la bactérie (**Lindsay et al. 2004**). *Staphylocoques aureus* possède un chromosome circulaire unique d'environ 2,8 Mb à faible teneur en guanidine et cytosine (30 à 39 %), classant *S. aureus* parmi les bactéries gram positives à faible GC% (**Accarias, 2014**).
- ✓ La deuxième partie du génome (environ 25%) est constituée d'éléments génétiques accessoires et mobiles comme des plasmides, transposons, prophages ou des îlots de

pathogénicité portant la plupart des gènes associés à des facteurs de virulence à la résistance aux antibiotiques (Lindsay et al., 2004).

#### **4 Épidémiologie des mammites à *S. aureus***

Dans la plupart des pays du monde, la mammite subclinique représente la pathologie dominante des vaches laitières. Le contrôle de ces problèmes nécessite une connaissance des facteurs de risque responsables de l'apparition et de persistance de cette pathologie dans l'élevage. Ainsi que la connaissance des modèles épidémiologiques dominants.

##### **4.1 Source de contamination et transmission**

La peau et les muqueuses des animaux à sang chaud constituent la niche écologique de *S. aureus*. Chez l'homme, les fosses nasales, le cuir chevelu et les mains sont les principales localisations. Chez les ruminants et plus particulièrement chez la vache, *S. aureus* se retrouve majoritairement dans les naseaux et sur la peau des trayons (Roberson et al., 1994). Ainsi, on recense de nombreuses sources de contamination par *S. aureus*, telles que l'air ambiant, la salle de traite, les aires de couchage, la présence d'abcès ou de lésions, la peau des jarrets ou des trayons, le vagin, le contact entre les animaux ou encore les mouches (Haveri et al., 2008).

Plusieurs études ont montré que le portage nasal est un réservoir important chez les ruminants (Alves et al., 2009; Vautor et al., 2009). Par exemple, une souche isolée d'une mammite gangréneuse chez une brebis a également été trouvée dans les naseaux d'un autre animal dans la même exploitation. Une glande mammaire infectée est aussi un réservoir non négligeable (Vautor et al., 2009). Différentes espèces de *staphylocoques* peuvent être isolées au niveau du trayon avant et après la traite (Gougoulis et al., 2007; Haveri et al., 2008; Skoufos et al., 2006). En ce qui concerne les mammites chez les ruminants laitiers, l'unité épidémiologique est le troupeau : l'environnement contaminé ou des animaux infectés causent la plupart des épidémies. Les vaches peuvent être porteuses saines de *S. aureus* au niveau de la peau du trayon, du rectum ou des cavités nasales (Roberson et al., 1994). Des études ont démontré que les sites les plus contaminés dans l'environnement de la mamelle sont la peau du trayon et les gobelets de la machine à traire. Les *staphylocoques* sont principalement transmis de pis à pis durant la traite, via la machine à traire ou les mains de l'éleveur. La transmission est également possible entre les animaux et les éleveurs (Sakwinska et al., 2011). Bien que *S. aureus* puisse survivre quelques temps dans l'environnement, ce pathogène

a besoin de coloniser l'animal pour assurer sa survie et sa multiplication, ce qui explique probablement pourquoi certains élevages n'ont pas de mammites à *S. Aureus*. Si aucun animal du troupeau n'est porteur, il est peu probable que *S. aureus* vienne de l'environnement. En revanche, une fois qu'un des animaux du troupeau est contaminé, il y a des risques élevés pour que la bactérie soit transmise à d'autres animaux.

#### **4.2 Facteurs de risque de mammite subclinique**

La mammite est une maladie de type multifactoriel pour les fermes laitières impliquant de nombreux facteurs liés au troupeau, à la vache et aux agents pathogènes (**Pinedo et al., 2012**). Plusieurs facteurs de risque tels que l'âge, les bactéries associées à la mammite, la gestion du troupeau et le type de litière ont été examinés dans de nombreuses études (**Hertl et al., 2014; Rowbotham and Ruegg, 2016**). Il a été rapporté que les facteurs de gestion d'un troupeau affectent de façon significative la MC causée par *S. aureus*, *S. dysgalactiae* et *E. coli* (**Barkema et al., 1999**). Le risque de mammite chez les vaches plus âgées est plus élevé comparativement aux jeunes animaux (**Zadoks et al. 2001**). **Dingwell et al. (2004)** ont démontré que les mécanismes de défense intra mammaires des vaches laitières et les défenses anatomiques peuvent se détériorer avec l'âge (parité).

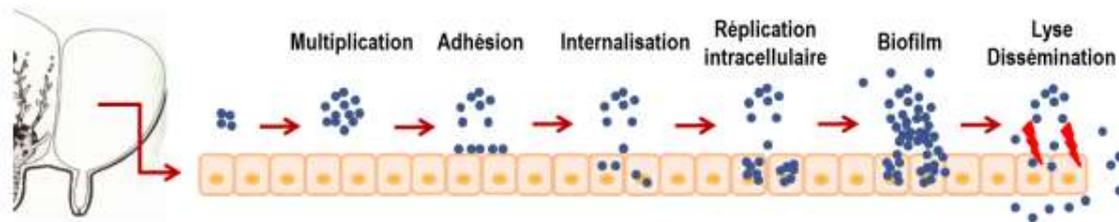
### **5 Pathogénie des mammites à *Staphylococcus aureus***

Les différents stades de la pathogénèse de *S. aureus* en contexte mammite sont encore mal connus, c'est pourquoi les étapes présentées ci-dessous relèvent de l'hypothèse, notamment les étapes qui suivent l'inoculation de la citerne de la glande mammaire (Figure 3).

La première étape du processus infectieux est la contamination de l'extrémité du trayon. La colonisation du canal du trayon augmente la probabilité d'infection dans cette région. Le franchissement du canal du trayon, même par un très petit nombre de bactéries, leur donne accès à la lumière de la glande et suffit à induire une infection mammaire. Le canal du trayon est donc central dans la protection de la mamelle. Lorsque les bactéries ont passé ce canal, les staphylocoques vont avoir la capacité de se répliquer dans le milieu lait, malgré certaines conditions de croissance peuvent être drastiques dans le lait. Malgré la présence de nombreux nutriments, la biodisponibilité du fer est faible ( $10^{-18}$  M) du fait de la concentration élevée en protéines liant le fer (iron binding proteins) telles que la lactoferrine ou la transferrine **Andrews et al., 2003**. La lactoferrine présente une activité inhibitrice de *S. aureus* et sa concentration augmente dans le lait en cas de mammite clinique (**Chaneton et**

*al.*, 2008; Lacasse et *al.*, 2008). De plus, *S. aureus* est capable de se développer mais de manière plus lente en absence d'oxygène. Dans le lait, la pression partielle en oxygène est faible (23 mm Hg) et l'est encore plus en cas de mammite : le niveau d'oxygène est environ dix fois moindre que dans le lait sain (Allard et *al.*, 2006; Le Maréchal et *al.*, 2009). Elles se disséminent. Une charge infectieuse de moins de 100 UFC dans la citerne est suffisante pour induire une mammite dans une glande saine, avec une probabilité de succès élevée (Le Maréchal et *al.*, 2011; Schukken et *al.*, 2013).

Les étapes suivant la multiplication intraciternale sont des étapes primordiales dans la survie et donc dans la persistance de *S. aureus* dans la mamelle. En absence d'observation et de données claires in vivo, ces étapes sont pour l'heure relativement spéculatives. Ces étapes sont l'adhésion à l'épithélium des citernes et des canaux galactophores puis l'internalisation des staphylocoques dans les cellules épithéliales mammaires.



**Figure 3: Cycle infectieux présumé de *S. aureus* dans la glande mammaire (d'après Sinha et al., 2012).**

### 5.1 Adhésion aux cellules épithéliales mammaires

L'étape suivante du processus infectieux intra-mammaire serait l'adhésion des staphylocoques aux cellules épithéliales mammaires dans la citerne de la glande mammaire et les canaux galactophores. Plusieurs études in vitro ont démontré que *S. aureus* peut adhérer aux cellules épithéliales et que cette capacité est souche dépendante (Bouchard et *al.*, 2013).

L'adhésion de *S. Aureus* aux tissus épithéliaux n'est pas aisée à démontrer in vivo. Cependant, plusieurs auteurs ont rapporté l'interaction de *S. aureus* avec l'épithélium mammaire suite à des infections expérimentales. *S. aureus* pourrait adhérer de façon plus forte au niveau des sites de microlésions de l'épithélium, qui permettent l'exposition du tissu et de la matrice extracellulaire pour lesquels *S. aureus* a de nombreuses adhésines (figure 4) (Brenaut et *al.*, 2014).

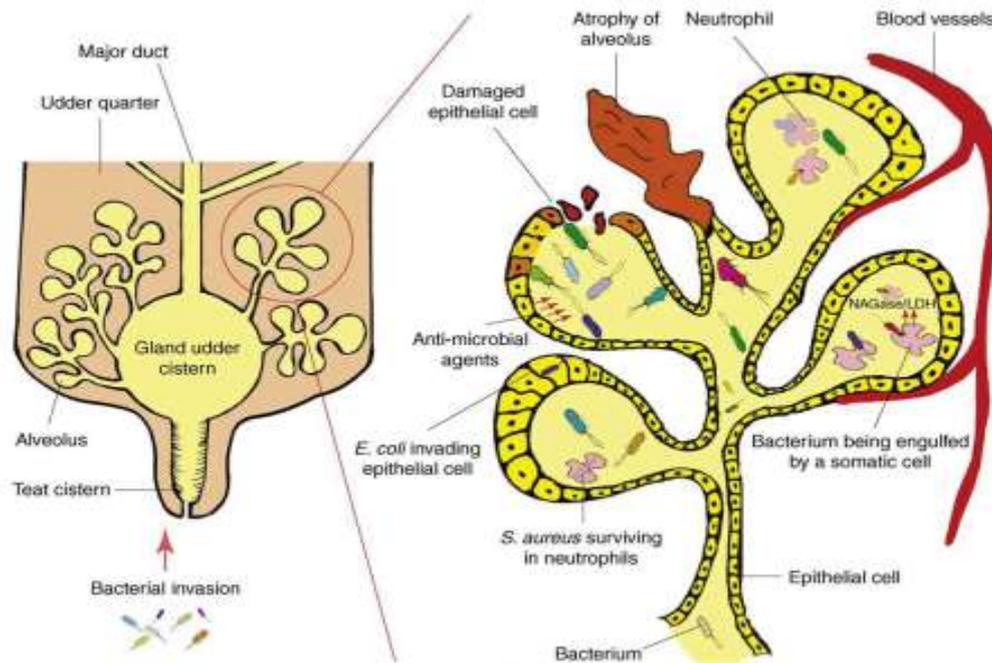


Figure 4: Pathogénie des mammites (Viguiet et al., 2009)

## 5.2 Internalisation de *S. aureus* dans les cellules épithéliales du tissu mammaire

Suite à l'adhésion, l'étape suivante serait l'entrée de *S. Aureus* dans les cellules épithéliales, qui pourrait expliquer en partie la persistance et la chronicité des mammites staphylococciques. Ce mécanisme est documenté pour d'autres pathologies chroniques causées par *S. aureus* chez l'humain, comme la rhinosinusite (Clement et al., 2005; Plouin-Gaudon et al., 2006) ou l'ostéomyélite, où *S. aureus* colonise les cellules osseuses et modifie son métabolisme pour s'adapter à un mode de vie intracellulaire et altérer les tissus infectés (Cassat et al., 2013; Kalinka et al., 2014; Rasigade et al., 2011; Sanchez et al., 2013).

A l'heure actuelle, l'internalisation reste cependant controversée dans le cas des mammites car non observée in vivo. Les mécanismes mis en jeu lors de l'internalisation de *S. aureus* sont aujourd'hui intensément étudiés et de mieux en mieux caractérisés essentiellement sur modèle cellulaire. L'entrée dans les cellules hôtes est un mécanisme utilisé pour échapper aux défenses du système immunitaire. Un panel de facteurs de virulence exposés à la surface (protéine A, fibronectin- et fibrinogen-binding protein), sécrétés (entérotoxines, hémolysines et coagulases) permet la colonisation et la multiplication dans les tissus de l'hôte (Heilmann, 2011; Le Maréchal et al., 2011).

Les cellules épithéliales internalisent les particules microbiennes par mécanisme d'endocytose médiée par récepteur, incluant notamment les protéines se liant à la fibronectine (FnBP), au fibrinogène (FgBP) et au collagène (CNA) ainsi que les clumping factor (Clf) A et B, l'acide teichoïque et certains composants de biofilms (**Middleton et al., 2009; Mitchell et al., 2008**). Après cette phase d'adhésion, *S. aureus* synthétise et sécrète de nombreux facteurs permettant l'invasion et la pénétration du tissu mammaire, notamment plusieurs toxines et différentes enzymes (protéases, coagulase, lipase, hyaluronidase). Ces lésions dans le tissu de la glande mammaire sont les principaux facteurs expliquant la réduction de production de lait (**Middleton, 2008 ; Suriyaphol et al., 2009**).

### **5.3 Dissémination dans les tissus adjacents et persistance**

Le devenir de *S. aureus* et de la cellule infectée va dépendre de la souche, mais aussi de la susceptibilité des cellules de l'hôte aux différents facteurs de virulence. La capacité de survie au sein des cellules de l'hôte après son internalisation représente une évolution similaire à celle des pathogènes intracellulaires, favorisant la persistance du pathogène et conférant un aspect chronique à l'infection impliquée (**Krut et al., 2003**).

La mamelle n'est pas complètement envahie par les bactéries. Les examens histologiques ont montré des sites localisés d'infection et il est probable que l'infection se propage dans les tissus mammaires via les canaux galactophores. De proche en proche, la majorité des tissus de la glande mammaire se retrouvent infectés, y compris le parenchyme. A une phase plus tardive du processus infectieux, *S. aureus* pourrait s'organiser en micro-colonies pour ensuite former des biofilms. Cependant, même si une proportion importante de souches isolées de mammites (40 à 60%, selon les études) sont capables de former des biofilms in vitro (**Szweda et al., 2012**).

Dans de nombreux cas et notamment lors de mammites, la persistance des infections est attribuable à la formation de « Small Colony Variant » (=SCV) (**Atalla et al., 2010 ; Garzoni et al., 2007**). Ces observations confirment le fait que *S. aureus* persiste dans les cellules de l'hôte sous la forme de SCV et participe à la formation de réservoir pour des infections récurrentes (**Sendi et Proctor, 2009**). Un autre mode de persistance au sein des tissus mammaires serait la formation d'abcès. Plusieurs protéines d'adhésion sont impliquées à différents stades de la formation de l'abcès, dont les protéines de liaison au fibrinogène (**Cheng et al., 2010**).

## **6 La repense immunitaire a *S. Aureus* dans la glande mammaire**

Quand *S. aureus* entre dans la glande mammaire saie, il induit systématiquement une inflammation, au bout de quelques heures à quelques jours post-infection selon la taille de l'inoculum, de la souche de *S. aureus* et de l'individu infecté, en quelques heures à quelques jours après inoculation. Cette inflammation provoque le recrutement de polynucléaires neutrophiles, le type de cellules somatiques le plus représenté en cas de mammite, puis de monocytes en masse, se traduisant par un comptage de CS dans le lait variable en fonction du temps mais dont la concentration peut dépasser le million de cellules par millilitre (**Riollet et al., 2001**).

La réponse inflammatoire de la glande mammaire est très variable en fonction du pathogène impliqué. La réponse à *S. aureus* se caractérise par la synthèse de TGF- $\beta$  et IL-8, des cytokines pro-inflammatoires (**Rainard et Riollet, 2006**). Cette réponse varie aussi en fonction du type de mammite et les mammites subcliniques n'induisent que peu de cytokines pro-inflammatoires (IL- $\beta$  et TNF- $\alpha$  notamment) (**Bannerman et al., 2006**). Ces cytokines participent à l'immunité de l'épithélium mammaire. Les cellules épithéliales mammaires en interaction avec *S. aureus* peuvent sécréter elles aussi des chimiokines de types IL-8 et TNF- $\alpha$ . Cette capacité de sécrétion est aujourd'hui de mieux en mieux caractérisée et des études récentes ont démontré la présence de « Toll Like Receptor » de type 2 et 4 à la surface des cellules épithéliales. Par conséquent, les cellules épithéliales mammaires jouent un rôle essentiel de sentinelles dans la glande mammaire (**Wellnitz et Kerr, 2004**).

Bien que participant à l'immunité de l'hôte, les réponses humorales sont pourtant limitées contre *S. aureus*. Le complément n'est pas bactéricide sur *S. aureus* et la lactoferrine est peu opérationnelle en milieu lait en raison des fortes concentrations en citrate (**Rainard et Riollet, 2006**). Parmi les défenses solubles, les défensines sont des peptides inhibiteurs de pathogènes. De nombreux travaux ont identifié l'existence et l'expression de défensines bovines dans la glande mammaire. Parmi les défensines les mieux caractérisées dans la glande mammaire, on peut citer la « Tracheal Antimicrobial Peptide », la « Lingual Antimicrobial Peptide » ou encore la « Béta Defensin 5 » (BNBD 5) (**Rainard et Riollet, 2006 ; Bougarn et al., 2011**).

De son côté, *S. aureus* possède des mécanismes de résistance aux défenses humores. Ainsi, certaines souches sont capables d'exprimer une capsule qui leur confère une protection contre la reconnaissance par les anticorps. Ces polysides capsulaires (majoritairement de type 5 et 8 chez les souches bovines) réduisent l'activité bactéricide et l'opsonisation par les polymorphonuclear leukocytes (=PMN) (Kampen et al., 2005). De même, la protéine A, la capacité de fixer les anticorps par leur fragment Fc, empêchant ainsi leur activité opsonisante (Fournier et Klier, 2004). *S. aureus* possède également un arsenal de toxines ciblant notamment les cellules du système immunitaire. L' $\alpha$ -toxine, exerce un effet toxique spécifique contre les neutrophiles. Cependant, les toxines les plus agressives pour les phagocytes sont les leucotoxines (toxines à deux composants formant des pores transmembranaires) (Prévost et al., 2001). Parmi ces leucotoxines, il y a les hémolysines mais surtout LukM/F' très cytotoxique pour les neutrophiles des ruminants (Rainard, 2007).

## **7 Importance des mammites à *S. aureus***

La mammite représente une grande importance d'un point de vue économique pour les éleveurs de vaches laitières en raison des effets négatifs des IIM sur différents aspects des vaches laitières et sur la performance du troupeau. Les mammites portent attention à l'hygiène animal et potentiellement la santé publique. Le danger zoonotique à la contamination du lait avec certains germes fait l'objet de préoccupation de santé publique (Bradley, 2002).

### **7.1 Conséquence économique des mammites**

La mammite est la principale cause des pertes économiques dans les troupeaux bovins laitiers, en raison de faible rendement des mamelles infectées, des traitements vétérinaires, des saisies du lait (contaminés par des agents pathogènes et/ou avec des résidus d'antibiotiques) ainsi que de la réforme prématurée des vaches infectées (Peton et Le Loir, 2014).

. Elle représente une perte financière insignifiante difficile à évaluer dans les formes subclinique car elles passent le plus souvent inaperçues pour l'éleveur (Dedert, 2001). Dans un troupeau de 100 vaches laitières au Pays-Bas, le coût annuel moyen de la mammite subclinique est estimé à 4 896 € (Halasa et al., 2009). De plus, la durabilité de l'élevage, pourrait être menacée en cas de fortes prévalences de mammites dans les troupeaux laitiers (Peton et Le Loir, 2014).

## **7.2 Impact des mammites sur la santé humaine**

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

## **7.3 Conséquence des mammites sur la qualité du lait**

L'une des principales composantes des pertes économiques suite à un cas de mammite est la réduction de la production du lait. La mammite a un impact négatif sur la production laitière et sur la persistance de la production laitière (Fadlelmula et al., 2009; Pérez-Cabal et al., 2009; Wolf et al., 2010). Ainsi, la qualité du lait diminue comme conséquence première de l'augmentation du nombre des cellules somatiques. La mammite provoque également des modifications de la concentration des composants du lait produit, notamment des modifications de la teneur en matières grasses, protéines, lactose et minéraux par rapport au lait provenant de vaches en bonne santé. Ces différences affectent négativement la qualité de la transformation produits laitiers : un lait de haute qualité est nécessaire pour améliorer la productivité et la durée de conservation des produits transformés tels que le fromage (Pérez-Cabal et al., 2008, Cha et al., 2011).

## **8 Diagnostic des mammites**

Le diagnostic des mammites subclinique repose d'une manière générale sur la mise en évidence des modifications, variations cytologique, chimique et bactériologique de l'état inflammatoire de la mamelle. La rapidité du diagnostic des mammites subclinique est également un facteur qui favorise une guérison rapide du fait d'un traitement aux antibiotiques plus précoce (Milner et al., 1997).

### **8.1 Le Taux Cellulaire du Tank (TCT)**

Le Taux Cellulaire du Tank (TCT) du lait est un indicateur de qualité sanitaire et technologique. Le nombre de cellules somatique dans le lait élevé, plus la probabilité de contamination de la mamelle est forte. Les cellules somatiques sont soit des cellules épithéliales qui se détachent de la muqueuse au cours de la traite, soit des cellules immunitaires ; sont des

cellules de défense produits par l'organisme pour détruire des bactéries responsables d'une infection de la mamelle. Le Taux cellulaire du Tank donne une idée à la situation sanitaire du troupeau laitière. Il se détermine à partir d'un échantillon du lait prélevé directement à la sortie du tank, et est réalisé au minimum légal d'une fois par mois ; une détermination hebdomadaire est souvent privilégiée par les laitières (Noireterre, 2006, Remy, 2010).

## **8.2 Le Comptage Cellulaire Somatique Individuelle (CCSI)**

Le comptage cellulaire somatique individuel correspond à la moyenne des taux cellulaires des quatre quartiers d'une vache. Les CCSI sont uniquement fournis aux adhérents au contrôle laitier, à raison d'une fois par mois, à partir d'un échantillon de lait. Un agent intercalant, le bromure d'éthédium, est ajouté à l'échantillon de lait qui est ensuite soumis à une longueur d'onde comprise entre 450 et 530 nm. Les noyaux des cellules du lait deviennent alors fluorescents, ce qui permet leur comptage (Noireterre, 2006 ; Pezon et Gremy, 2015).

Ainsi, on considère une vache « saine » lorsque l'ensemble de ses CCSI est inférieur à 300 000 cellules/ml. À l'inverse, pour considérer une vache « infectée chronique » il suffit de deux résultats annuels supérieurs à 800 000 cellules/ml. Les vaches présentant au moins une fois dans l'année un CCSI supérieur à 300 000 cellules/ml sont quant à elles considérées comme « douteuses » (Noireterre, 2006 ; Pezon et Gremy, 2015).

## **8.3 Le Californian Mastitis Test (CMT)**

Le test CMT est également appelé test au teepol<sup>®</sup> ou Leucocyttest. Le CMT est un test très simple, facile, réalisable au chevet de l'animal et peu onéreux. Il permet d'évaluer semi-quantitativement les cellules somatiques présentes dans le lait. Il permet de détecter les mammites subcliniques et d'identifier le(s) quartier(s) atteint(s) lors d'une augmentation de la concentration en cellules somatiques (Dudouet, 2004 ; Salat, 2014). Pour réaliser le CMT, il faut d'abord éliminer les premiers jets. Dans un plateau possédant quatre coupelles, il faut recueillir environ 2 ml de lait de chaque quartier puis ajouter l'équivalent du réactif. Ce réactif est composé d'un détergent (solution de Teepol à 10%) et d'un colorant (le pourpre de bromocrésol). Il y a une forte corrélation entre les résultats de ce test et les comptages cellulaires réalisés en laboratoire. Le changement de couleur indique une variation du pH du lait et donc le degré d'inflammation. Par contre, ce test ne peut pas être réalisé lors des 3 à 4 premiers jours de lactation car il y a une émission massive de cellules épithéliales dans le

colostrum, plus particulièrement chez les primipares, ce qui nuit à l'appréciation du test. De plus, en cours de lactation, un résultat négatif ou faible n'exclut pas une infection (**Viguiet et al., 2009 ; Santana et al., 2013 ; Damm et al., 2017**).

#### **8.4 Mesure de la conductivité électrique du lait**

La conductivité électrique et sa possibilité à laisser ses charges électriques circuler de manière à produire un courant ; Les cations se déplacent dans le sens du courant c'est à dire de la borne + vers la borne -, tandis que les anions se dirigent dans le sens inverse du courant c'est à dire vers la borne +. A l'état physiologique, le lait a une concentration élevée de  $K^+$  et lactose que  $Na^+$  et  $Cl^-$ , alors que le sang et les liquides extracellulaires sont plus concentrés en  $Na^+$  et  $Cl^-$  qu'en  $K^+$  et lactose (**Jacquinet, 2009**). On pourrait expliquer cette différence de concentration par les échanges membranaires, c'est-à-dire les molécules traversent les membranes cellulaires dans le sens de leur gradient de concentration : du compartiment où elles sont le plus concentrées vers le compartiment où elles le sont le moins. Or, la perméabilité de la membrane cellulaire varie d'une molécule à l'autre, et ce phénomène de diffusion passive n'est observable que pour les molécules hydrophobes, ce qui n'est pas le cas des ions  $Na^+$ ,  $K^+$  et  $Cl^-$ . La mammite subclinique, l'inflammation et les toxines bactériennes, entraînant une augmentation de la perméabilité vasculaire et à des dommages cellulaires, parmi eux l'atteinte des jonctions serrées et des protéines transmembranaires (canaux ioniques et pompes  $Na/K^+$  ATPase). Les ions diffusent alors passivement d'un compartiment à l'autre dans le sens de leur gradient de concentration : les concentrations en  $Na^+$  et  $Cl^-$  dans le lait augmentent fortement d'où une amplification brutale de la conductivité électrique (**Jacquinet, 2009**). Dans le cas d'une infection et d'une inflammation du quartier, les jonctions intercellulaires sont plus lâches et la perméabilité capillaire est augmentée. Ces phénomènes sont à l'origine de l'augmentation des concentrations en ions  $Na^+$ ,  $Cl^-$  et une diminution de la concentration en ions  $K^+$  dans le lait. Ceci a pour effet d'augmenter la conductivité du lait. Il existe actuellement des appareils portatifs de mesure de la conductivité du lait. Cette méthode est aussi le moyen de détection des mammites le plus répandu dans les équipements de traite (**Durel et Poutrel, 2006 ; Gourreau et al., 2009**).

## **9 Méthodes de prophylaxie et de contrôle**

### **9.1 Mesures préventives**

La prophylaxie contre les mammites est antiseptique, nutritionnelle, génétique et/ou vaccinale. Les principales mesures de prophylaxie antiseptique visent à éliminer ou limiter les sources de *S. aureus* dans l'élevage et d'agir sur le mécanisme de sa transmission. La source majeure de *S. aureus* demeure le quartier infecté, et la transmission se faisant essentiellement à l'occasion de traiter d'un quartier à un autre et/ou d'une vache à une autre. Les vaches atteintes d'infections chroniques et/ou de mammites subcliniques, sont alors des sources de dissémination de la bactérie au sein de l'élevage. Pour éviter la dissémination de l'infection au sein d'un troupeau, les quartiers infectés par *S. Aureus* doivent être identifiés et diagnostiqués rapidement pour pouvoir les traiter et pour que les animaux soient isolés ou réformés. Pour cela, de nouvelles techniques sont en cours de développement afin de déterminer le plus rapidement possible, voire en temps réel, si des vaches sont en train de développer une mammite. Notamment un système de caméra infrarouge a été mis au point pour mesurer la température externe des pis afin de détecter les éventuelles inflammations (**Metzner et al., 2014**).

À la fin de la lactation, c'est-à-dire au tarissement, une antibiothérapie permet également de prévenir de nouvelles infections au moment du vêlage (**Bradley, 2002**). Le traitement au tarissement est abordé dans la section suivante. Ces mesures doivent également être associées à une bonne pratique d'hygiène au moment de la traite. Dans le cas des élevages qui pratiquent la traite manuelle, les mesures d'hygiène impliquent le lavage et la désinfection des mains, du trayeur, du pis et des trayons avant et après la traite (**Zadock et al., 2011, Peton et Le Loire, 2014**). **Nagahata et al. (2000)** ont proposé un programme de contrôle de mammites articulé autour de cinq points d'intervention pour la maîtrise des infections particulièrement causées par *S. aureus* :

- ✓ Établissement d'un ordre de traite ;
- ✓ Usage de gants en plastique à usage unique pour les travailleurs et de lavettes individuelles pour laver chaque trayon ;
- ✓ Trempage des trayons dans une solution désinfectante ;
- ✓ Traitement des quartiers atteints par des antibiotiques au tarissement ;
- ✓ Abattage des vaches infectées dans plus de deux quartiers et/ou atteintes d'infection chronique.

## **9.2 Antibiothérapie**

Le succès de l'antibiothérapie face à une mammite à *S. aureus* est faible (**Barkema et al., 2006**) L'efficacité des antibiothérapies varie considérablement, de 4% à 92% de taux de guérison, selon les antibiotiques utilisés (**Barkema et al., 2006**). Parmi les infections intramammaires, la mammite à *S. aureus* est la plus difficile à traiter, avec des taux de guérison souvent inférieurs à 25% lors de la lactation. Le succès du traitement dépend de plusieurs facteurs tels que le choix de l'antibiotique, la concentration minimale inhibitrice nécessaire, le dosage, la durée du traitement et le statut immunitaire de l'animal (**Sears et McCarthy, 2003**).

Depuis quelques années, seules les mammites cliniques étaient traitées en lactation. Alors que : pour les mammites subcliniques, Il fallait attendre le tarissement pour pouvoir les traiter. On observe de nos jours une évolution de ces pratiques avec des antibiothérapies destinées à traiter des mammites subcliniques en pleine lactation. En outre, les *Staphylococcus aureus*, sont très contagieuses et se transmettent rapidement à tout le troupeau laitier ; c'est pourquoi, certains éleveurs soucieux de l'état sanitaire global de leur cheptel, préfèrent enrayer l'infection dès son début (**Giguere et al., 2013**). Le traitement au tarissement a plusieurs avantages par rapport au traitement en lactation. La dose d'antibiotique est plus élevée et la concentration est maintenue dans la mamelle (absence de traite) (**Royster et Wagner, 2015**).

Les mammites subcliniques ne présentent pas de danger pour la vie de la vache ni une potentielle perte de fonction de la glande mammaire. Ainsi, l'administration d'un antibiotique en lactation peut attendre les résultats d'une bactériologie. L'administration d'un traitement intramammaire n'est donc pas forcément judicieuse au vu de la potentielle fibrose étendue et du micro abcès potentiellement formés dans le parenchyme mammaire. L'utilisation de macrolides par voie générale et de  $\beta$ -lactamines par voie intra-mammaire donnent de bons résultats. Selon une étude, les taux de guérison atteignent 70 à 90%. Selon **Bergonier (2014)**. Les principales molécules utilisées en première intention appartiennent à la famille des Pénicillines A comme l'amoxicilline ou l'ampicilline. Toutefois, le choix de l'oxytétracycline, des triméthoprime-sulfaméthoxazole peut être judicieux pour traiter les vaches atteintes d'une mammite colibacillaire (**Wagner et Erksine 2006**).

Le traitement au tarissement a plusieurs avantages par rapport au traitement en lactation. La dose d'antibiotique est plus élevée et la concentration est maintenue dans la mamelle (absence de traite) (**Royster et Wagner, 2015**). Néanmoins, le tarissement est une période critique. Des changements biochimiques, cellulaires et immunologiques ont lieu. L'involution du parenchyme mammaire débute 1 à 2 jours après la fin de la lactation et dure de 10 à 14 jours. C'est en particulier durant cette période que la glande mammaire est sensible à de nouvelles infections intramammaires (**Wagner et Erskine, 2013**).

Le tarissement est la période idéale pour associer un traitement antibiotique et la fonction immunitaire de la mamelle. Le traitement des mammites subcliniques et chroniques est ainsi à privilégier lors du tarissement. L'utilisation de macrolides par voie générale et de  $\beta$ -lactamines par voie intra-mammaire donnent de bons résultats. Selon une étude, les taux de guérison atteignent 70 à 90%. Une baisse progressive des CCS doit ainsi être observée durant les mois suivants le traitement. Les animaux ne répondant pas au traitement doivent être séparés ou alors être réformés (**Durel et al., 2003**).

### **9.3 Résistances aux antibiotiques**

La résistance aux antibiotiques est un terme relatif puisqu'il existe de nombreuses définitions en fonction du critère sur lequel on se base (génétique, biochimique, microbiologique ou clinique) (**Muylaert et al., 2012**). Selon **Savic (2018)**, l'antibiorésistance désigne l'ensemble des mécanismes d'adaptation utilisés par les bactéries pour échapper aux antibiotiques. Elle est fréquemment définie d'un point de vue clinique par l'existence d'une forte probabilité d'échec thérapeutique au cours d'une antibiothérapie conduite aux posologies validées. Au contraire, on parle de sensibilité lorsqu'il existe une forte probabilité de succès thérapeutique aux posologies validées. En pratique, elle se traduit par une infection qui ne répondra pas à un traitement pourtant adapté (**D'Costa et al., 2011 Arquembourg, 2017**). En médecine vétérinaire comme en médecine humaine, l'antibiorésistance est au cœur des préoccupations actuelles de santé publique. L'augmentation des résistances aux antibiotiques de dernière génération peut expliquer cette prise de conscience (**Méheust et al., 2016**).

#### **9.3.1 Différents types de résistance**

Il existe deux types de résistance portée par la bactérie, les résistances naturelles ou intrinsèques et les résistances acquises qui sont beaucoup plus fréquentes.

### **9.3.1.1 Résistances naturelles**

On parle de résistance naturelle, innée ou intrinsèque lorsque celle-ci est caractéristique d'une espèce bactérienne. Elle est portée par le chromosome ce qui lui permet d'être stable et transmissible à la descendance. La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire. Elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce et est commune à toutes les bactéries d'une même espèce (**Sabtu et al., 2015**).

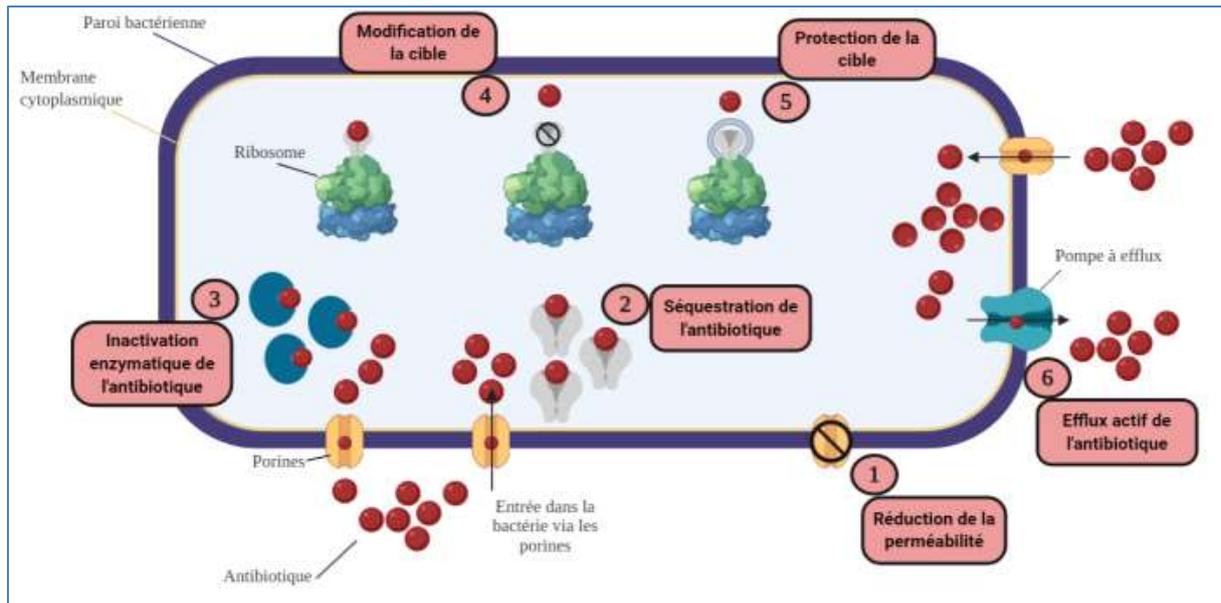
La résistance est donc liée aux propriétés naturelles des bactéries (**Vittecoq et al. 2016**). En ce qui concerne *S. aureus*, peu de résistances naturelles existent, elles concernent seulement l'aztréonam, des quinolones de 1<sup>ère</sup> génération, ainsi que des peptides cycliques (polymixine B et E et colistine) (**Muylaert et al., 2012**).

### **9.3.1.2 Résistances acquises**

La résistance acquise, contrairement aux résistances naturelles, est propre à certaines souches de l'espèce et a la particularité de se propager de façon importante. Elle peut être portée par le chromosome suite à une mutation ayant lieu spontanément pendant la réplication ou par les éléments génétiques mobiles acquis par la bactérie, ce qui est le plus fréquent. Cette résistance constitue un caractère épidémiologique et permet ici de définir un phénotype de résistance acquise des bactéries (**Muylaert et al., 2012 ; Martínez et Baquero, 2014**). La résistance acquise entraîne la résistance à un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était sensible auparavant (**Buard 2013 Sabtu et al., 2015**).

### **9.3.1.3 Mécanisme de résistance aux antibiotiques**

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des antibiotiques. Les mécanismes de résistance sont nombreux et les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la réduction de la perméabilité membranaire de la molécule (figure 5). D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique ont été également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés (**Muylaert et al., 2012 ; Zaffiri et al., 2012 ; Muylaert et Mainil, 2012**).



**Figure 5 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques mis en place par les bactéries (adaptée de Muylaert A., et al., 2012)**

#### 9.3.1.4 Résistance de *S. aureus* aux antibiotiques

L'importance de *S. aureus* en pathologie vétérinaire n'est plus à démontrer de nos jours. Cependant, l'introduction au cours du siècle dernier des antibiotiques aurait dû permettre de traiter les infections staphylococciques de manière relativement simple du fait du peu de résistances naturelles de cette espèce bactérienne. Mais c'était sans compter sur la capacité d'adaptation de *S. aureus* qui a su développer des mécanismes de résistance grâce notamment à la grande plasticité génomique de cette espèce. L'étude de quelques exemples illustre de façon criante la rapidité d'adaptation de *S. aureus* vis-à-vis des traitements antimicrobiens (Dumitrescu et al., 2010). La pénicilline, comme toutes les  $\beta$ -lactamines, est définie par la présence d'un anneau  $\beta$ -lactame essentiel à son activité (Vestergaard et al., 2019). En 1941, toutes les souches de *S. aureus* semblaient sensibles à la pénicilline G. Dès 1944, est apparue les staphylocoques résistants à la pénicilline, grâce à l'acquisition d'une pénicillinase plasmidique, enzyme dégradant la pénicilline. Une pénicillinase qui maintenant concerne plus de 95% des souches cliniques (Andriatsitohanana, 2016).

La prévalence de ces bactéries résistantes à la pénicilline a ensuite augmenté de manière spectaculaire si bien que, 10 ans après son introduction, environ 80% des souches isolées étaient résistantes (Vestergaard et al., 2019). Cette résistance est due à l'acquisition par les bactéries du gène blaZ. Ce gène code pour une  $\beta$ -lactamase qui inactive la pénicilline en venant hydrolyser son cycle  $\beta$ -lactame (Foster, 2017 ; Vestergaard et al., 2019).

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



***PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE***



*OBJECTIFS ET METHODOLOGIE*

## **1 Objectifs et méthodologie**

### **1.1 Objectifs de l'étude**

L'objectif général visé dans ce travail est de faire l'inventaire des principaux facteurs impliqués dans les mammites au niveau des élevages de la wilaya d'Ain-Temouchent et de procéder à la prévalence des mammites subclinique due aux *Staphylococcus aureus*, afin de proposer une stratégie efficace de prévention et de contrôle.

Les objectifs spécifiques assignés à cette étude sont :

- 1) Étudier la prévalence mammites subcliniques dans quelque élevage bovin laitier par un test CMT (Californian Mastitis Test) dans la wilaya d'Ain-Temouchent
- 2) Déterminer la prévalence des mammites subclinique due aux *Staphylococcus aureus*,
- 3) Détermination du profil de résistance et de sensibilité de ces bactéries vis-à-vis des antibiotiques utilisés en routine dans la thérapeutique vétérinaire.
- 4) Et, enfin, évaluer l'impact de l'application des mesures d'hygiène sur la prévalence des mammites

### **1.2 Présentation de la de la région d'étude**

Notre étude a été effectuée au Nord-ouest Algérien, il s'agit de wilaya d'Ain Témouchent. La wilaya d'Ain Témouchent occupe une position stratégique dans l'ouest de l'Algérie. Issue du découpage administratif de 1984, elle s'étend sur une superficie de 2377 km<sup>2</sup> et abrite une population de 378,546 habitants. Elle est située en Oranie, et limitée à l'est par la wilaya d'Oran, au sud-est par la wilaya de Sidi-Bel-Abbès, au sud-ouest par celle de Tlemcen, et au nord-ouest par la mer Méditerranée qui la borde sur une distance de 80 km environ. Elle est composée de 8 Daïras et 28 communes (DSA d'Ain Témouchent, 2021) (Figure 7).

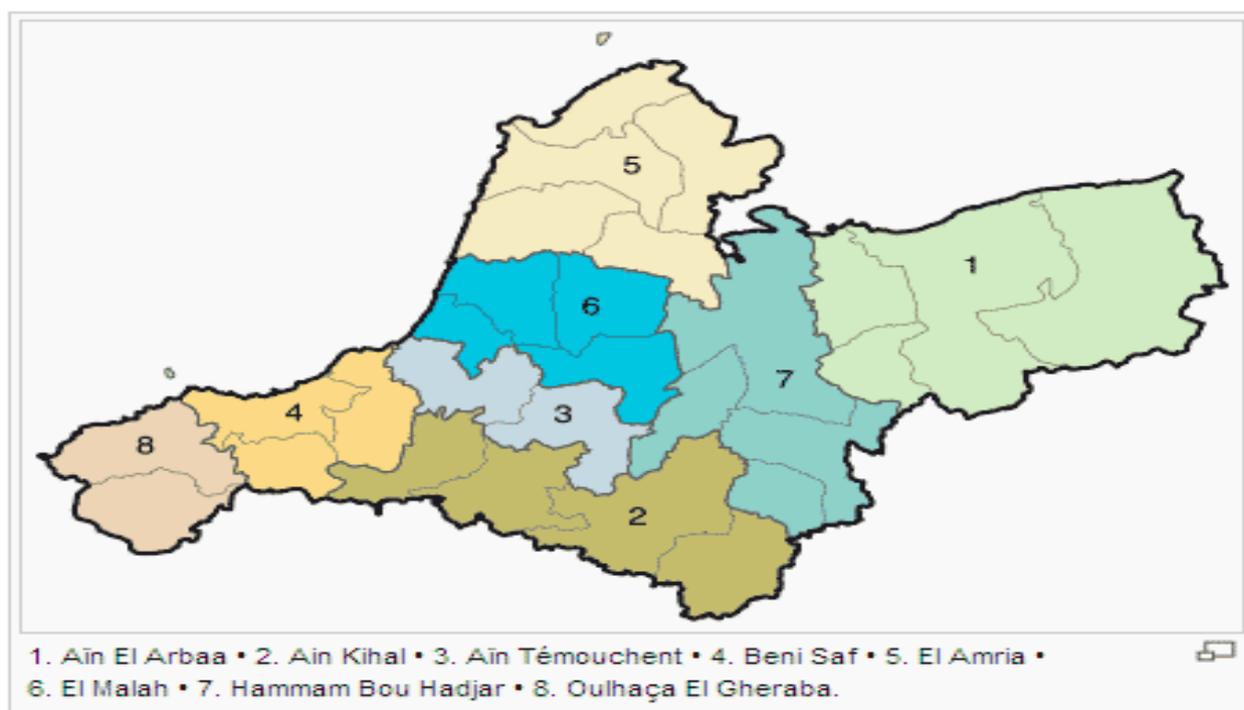


Figure 6: Situation géographique de la wilaya d’Ain Témouchent

### 1.3 Échantillonnage et la collecte des informations

Les échantillons de lait sont prélevés à partir des vaches qui présentent un CMT positif. Les informations ont été recueillies sur des fiches d’enquête sous forme de questionnaires renseignant sur l’identification de la ferme, la structure du troupeau, la pratique de la traite, l’alimentation et le suivi sanitaire des animaux. Une fiche de prélèvement a permis de recueillir des informations spécifiques aux animaux prélevés, à savoir le stade et le rang de lactation.

### 1.4 Dépistage des mammites subcliniques

Le California Mastitis Test (CMT) est également appelé test au teepol® ou Leucocyttest. Bien qu’ayant une sensibilité et une spécificité variables, ce test est répandu car peu coûteux, rapide et faisable au chevet de l’animal (Srivastava et al., 2015). Il permet le dépistage rapide des mammites subcliniques.

#### 1.4.1 Principe et technique de réalisation

Le CMT est basé sur l’emploi d’un détergent tensioactif (solution de Teepol à 10 %) et d’un indicateur coloré (pourpre de bromocrésol) sur le lait. Ce réactif tensioactif provoque la

lyse des cellules présentes dans le lait par la destruction des parois et la libération de l'ADN formant ainsi un réseau qui emprisonne les globules gras et autres particules. Ce qui a pour effet d'augmenter la viscosité du lait, voire de provoquer un flocculat dont l'importance et la consistance sont fonction de la teneur en cellules de l'échantillon de lait. L'indicateur coloré change de couleur comme dans le test avec un papier pH.

Chez les vaches en phase lactation, une fois le pis est nettoyé d'une manière grossière, c'est selon les procédures données par Quin et al. (1994), que le diagnostic de la mammites subclinique par le California Mastitis Test (CMT) a été réalisé. En pratique, pour chaque trayon, une fois les premiers jets de lait éliminés, une quantité suffisante du lait (2mL) est traitée dans la coupelle correspondante de la palette de CMT, auxquelles une quantité égale du réactif de CMT (2 ml de réactif RAIDEX) est rajoutée. Ainsi, un doux mouvement circulaire dans un plan horizontal est assujéti à la palette pendant quelques secondes. Le résultat de la réaction marque le niveau de destruction des cellules somatiques et de coagulation des acides nucléiques. De ce fait, la positivité est fonction de degré de formation de gel pouvant aller de +1 à +3 alors que, la négativité est l'aboutissement d'un mélange inchangé. Une vache est considérée atteinte d'une infection intra mammaire si elle présente au minimum un quartier positif au CMT même en l'absence d'isolement de micro-organisme.



**Figure 7: Technique de réalisation du Californian Mastitis Test (CMT).**

#### **1.4.2 Lecture et interprétation**

La lecture et l'interprétation du CMT se font en référence au tableau de lecture (tableau 3).

Tableau 2: Interprétation du Leucocyttest selon les indications accompagnant le réactif

Lecture			Interprétation	
Aspect	Score		Infection	Relation avec la numération cellulaire moyenne (x 10 <sup>3</sup> ml)
	Valeur	croix		
<b>Consistance normale</b>	0	(0)	absente	0-200
<b>Léger gel disparaissant après agitation</b>	1	(±)	Risque d'infection par pathogène mineur	150-500
<b>Léger gel persistant, filament grumeleux</b>	2	(+)	Mammite subclinique	500-1500
<b>Epaississement immédiat, amas visqueux au fond de la coupelle</b>	3	(++)	Mammite subclinique	800-5000
<b>Gel épais, consistance du blanc d'œuf</b>	4	(+++)	Mammite subclinique à la limite de l'expression clinique	Plus de 5000

## 1.5 Prélèvements et analyse microbiologique

### 1.5.1 Prélèvement des échantillons de lait

La qualité du prélèvement et de la technique de l'opérateur sont des conditions fondamentales pour la qualité de l'examen bactériologique des laits de mammites

Les vaches en lactation choisies ont été soumises à un CMT individuel par quartier en début de traite. Tout quartier présentant un score au CMT supérieur ou égal à 2 a fait l'objet de prélèvement pour les analyses bactériologiques. Les prélèvements de lait sont effectués dans des conditions aussi proches que possible de l'asepsie. Les prélèvements de lait ont été collectés, avant la traite du matin, selon les instructions de National Mastitis Council (NMC, 1990).

Afin de limiter tout biais lié à la technique de prélèvement, chaque quartier révélé préalablement atteint d'une mammite subclinique, a été lavé par de l'eau de robinet puis séché par des lavettes uniques jetables. Après avoir lavé et séché soigneusement nos mains, des gants jetables ont été enfilés. une désinfection soigneuse de l'extrémité des trayons à l'aide d'un tampon de coton imbibé d'alcool à 70° en commençant par les trayons les plus

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

Les prélèvements ont été réalisés dans des tubes stériles de 20 ml, suivant la technique décrite par Diernoffer cité par Dupont (1980), c'est-à-dire dans l'ordre inverse de celui de la désinfection. En effet, on commence la désinfection par le quartier le plus éloigné pour aboutir au quartier le plus proche, alors que le prélèvement commence du quartier le plus proche vers le quartier le plus éloigné.

Avant chaque collecte d'échantillon de lait, les informations de l'animal et le quartier prélevé ont été mentionnées sur les tubes stériles. Après élimination des premiers jets, le bouchon est ôté. Le couple, tube et bouchon ont alors leurs ouvertures dirigées vers le bas, et ce afin d'éviter toute contamination. Sitôt, le trayon saisi de la main droite, est ramené en position latérale pour être trait presque horizontalement dans le flacon à prélèvement. Ce dernier en position oblique au moment où le lait gicle, est porté entre le pouce et l'index de la main gauche avec un bouchon porté par l'index et le médium orienté vers le bas. Enfin, le flacon est rebouché avant redressement, puis placé immédiatement dans une glacière à 4°C et acheminés au laboratoire pour analyse microbiologique.



**Figure 8: Les échantillons du lait**

### **1.5.2 Analyse microbiologique**

L'étude bactériologique a été réalisée dans le laboratoire pédagogique de microbiologie de l'université d'Ain-Temouchent. Les analyse microbiologique se fait à partir de l'échantillon qui ont un CMT positive. Le travail a consisté à constituer des pools, à

préparer les milieux de culture, à la mise en culture des prélèvements, à faire l'isolement et l'identification des germes contenus dans les échantillons de lait et enfin à tester la sensibilité de quelques germes isolés vis-à-vis de quelques antibiotiques couramment utilisés.

### 1.5.2.1 Enrichissement

Les milieux d'enrichissement permettent de favoriser une croissance bactérienne à partir des prélèvements. Il s'agit en général de milieux liquides riches permettant le développement d'un maximum de bactéries. Parmi les plus utilisés, on trouve le bouillon (BHIB) Brain-Heart Infusion Broth qui est un milieu nutritif tamponné, est utilisé pour la culture d'une très grande variété de microorganismes aérobies ou anaérobies, incluant levures et moisissures. Nous avons pris quelques millilitres de lait cru (2ml) à l'aide d'une seringue à usage unique dans des conditions aseptiques et nous l'avons mis dans des tubes préalablement identifiés par le numéro de chaque vache et qui contiennent le bouillon BHIB (8ml), puis les tubes sont agités dans le vortex et incubés dans une étuve à 37°C pendant 24h (figure 9)



**Figure 9: Réalisation de l'enrichissement.**

### 1.5.2.2 L'isolement

Après 24h d'incubation des milieux d'enrichissement BHIB, nous avons prélevé à partir de chaque tube de milieu d'enrichissement un volume de 0,1 ml (Après homogénéisation au vortex pendant quelques secondes) de la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette graduée stérile, que l'on ensemence sur la gélose Chapman et aussi de la gélose sélective Baird-Parker additionnée d'une émulsion de jaune d'œuf et de tellurite de potassium

### **1.5.3 Identification des souches *Staphylococcus aureus***

Les colonies caractéristiques obtenues sur la gélose Chapman et aussi de la gélose sélective Baird-Parker additionnée d'une émulsion de jaune d'œuf et de tellurique de potassium sont testé en vue de leur identification basée sur les caractères morphologiques (état frais, coloration de Gram) et caractères biochimiques.

#### **1.5.3.1 Identification morphologique**

##### **1.5.3.1.1 Examen macroscopique**

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. D'après **Joffin et Leyral, 2001**, les éléments clés d'identifications macroscopiques sont : la forme (ronde, irrégulière), la surface (lisse, sèche), la taille, la couleur, l'opacité (la transparence, opaque), évaluation des colonies (concave, plat, la consistance, et pigmentation).

Les colonies de *Staphylococcus* présumées pathogènes sont noires, brillantes et convexes (1 à 1,5 mm de diamètre après 24 h d'incubation et 1,5 à 2,5 mm de diamètre après 48 h d'incubation) sur le milieu Baird Parker, entourées d'une zone claire due à l'hydrolyse des protéines de l'œuf. Des zones opaques dues à l'activité l'impolitique (lécithinase) peuvent apparaître plus tardivement (après 24 heures) dans le halo clair (**Guiraud, 1998**).

##### **1.5.3.1.2 Examen microscopique**

L'examen microscopique en bactériologie peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle (l'état frais) ou bien après la coloration de gram. Cet examen renseigne sur la présence de bactéries confirmant l'origine bactérienne d'une infection. L'examen microscopique est une étape clé dans la démarche diagnostique des infections bactériennes.

##### **1.5.3.1.3 Examen direct à l'état frais**

L'état frais est un examen de mise en œuvre très simple et qui a lieu au microscope optique à l'objectif x 40. Il permet d'apprécier la morphologie des bactéries, leur mode de regroupement, leur abondance et leur mobilité. Pour ce faire :

- ❖ nettoyer une lame puis déposer une goutte d'eau distillée

- ❖ prélever une colonie à l'aide d'une pipette pasteur stérile.
- ❖ homogénéiser la suspension bactérienne avec l'eau distillée en décrivant un mouvement circulaire.
- ❖ passer la lame dans la petite flamme du bec bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur puis refroidir la lame.

#### **1.5.3.1.4 Test de la coloration de Gram**

La coloration de Gram est effectuée à partir des colonies cultivées sur gélose Baird Parker, présentant l'aspect caractéristique du staphylocoque. Elle peut être aussi réalisée sur le milieu Chapman, pour confirmer la présence de cocci en diplocoques et en grappes de raisin. La coloration de Gram est un examen qui permet non seulement de voir la forme et le mode d'association des bactéries mais aussi de distinguer deux types de bactéries (les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif). Pour ce faire : un fragment de colonie bactérienne de 24 heures obtenu sur la gélose est prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur puis barboté dans une goutte d'eau distillée stérile sur une lame propre (lame nettoyé par alcool). Le frottis ainsi obtenu est fixé et séché par flambage à l'alcool, puis successivement traité au violet de gentiane (1 minute), au lugol (30 secondes), à alcool éthylique 70° et enfin à la fuchsine (15 secondes). Entre deux traitements le frottis est rincé à l'eau. La lame est séchée et observée au microscope à l'objectif x 100 après addition de l'huile à immersion.

#### **1.5.3.2 Identification biochimique**

En plus des caractères morphologiques, les tests biochimiques sont indispensables pour obtenir l'identification d'une bactérie. Les méthodes biochimiques reposent sur la recherche d'enzymes responsables de certaines réactions biochimiques, sur l'utilisation d'un substrat particulier ou la présence de produits spécifiques issus du métabolisme intermédiaire.

##### **1.5.3.2.1 Test de catalase**

Il s'agit de mettre en évidence la présence de cette enzyme dans les bactéries. Le test de mise en évidence de la production de la catalase est réalisé à l'aide du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). La catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau et en oxygène libre, réaction dans laquelle le peroxyde d'hydrogène agit comme donneur et accepteur d'électrons. Si une bactérie possède la catalase, un dégagement gazeux sous forme de bulles est produit. Ainsi, un fragment de la colonie

bactérienne de 24 heures est prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et barboté dans une goutte d'eau oxygénée. La présence d'un dégagement gazeux sous forme de bulles traduit la production de la catalase par la bactérie.

#### **1.5.3.2.2 Test de coagulas**

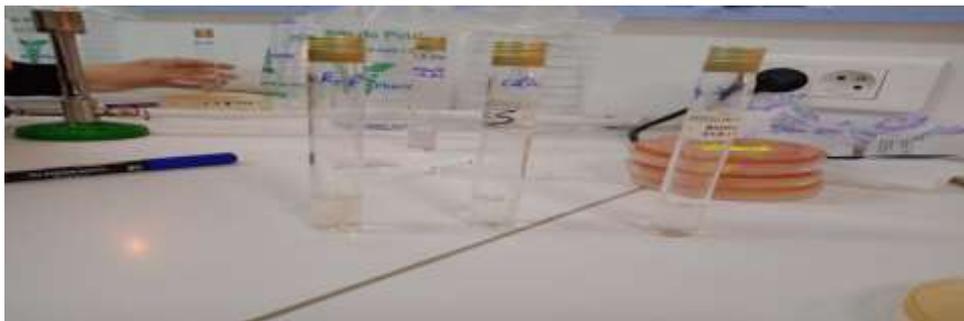
La coagulas est une enzyme libérée d'une le milieu par *S.aureus*.sa mise en évidence suffit à elle seule à confirmer la présence de ce germe, cette enzyme a la capacité de coaguler plasma de lapin. A l'aide de d'une seringue jetable, déposer 3 gouttes de plasma de lapin dans un tube en verre stérile, A l'aide d'une pipette pasteur des colonies bien isolées sont sélection dans le milieu apte insérées dans des tubes. Après incubation a 37c° de lecture de ont été effectuées tous les quarts d'heure a moins. Pendant les quatre premières heures dans le cas de la coagulasse réversible. Un résultat de test positif indique la formation d'une pierre. Le témoin positif a été réalisé de la même manière en utilisant la souche témoin *S.aureus* (**pilet et al.,1979**).

#### **1.5.4 Antibiogramme des souches *S aureus* isolés**

Après identification des différentes souches de *S. Aureus* responsables de mammites subcliniques, une recherche de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu solide selon la technique préconisée par le CLSI (**Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011**). La réalisation de l'antibiogramme a consisté à préparer l'inoculum bactérien, à l'ensemencer sur la gélose, à appliquer les disques d'antibiotique, à incuber les boîtes, à lire et à interpréter les résultats.

##### **1.5.4.1 Préparation de l'inoculum bactérien**

A partir d'une culture de 24 heures obtenue sur milieu d'isolement approprié, deux à trois colonies bactériennes bien isolées et parfaitement identiques ont été prélevées et émulsionnées dans 10 mL d'eau physiologique stérile à 0,9%. Pour l'obtention d'une turbidité à l'échelle 0,5 de MacFarland équivalent à une concentration bactérienne d'environ 10<sup>6</sup> UFC/mL. La suspension ainsi obtenue a constitué l'inoculum bactérien (figure 10).



**Figure 10: Préparation de l'inoculum bactérien**

#### **1.5.4.2 Ensemencement, application des disques et incubation**

Un écouvillon stérile est trempé dans l'inoculum bactérien, puis ensemencé sur toute la surface de la gélose Müller-Hinton, en stries serrées en pivotant chaque fois la boîte. Après l'ensemencement, les disques d'antibiotiques sont posés sur la surface de la gélose Müller-Hinton à l'aide d'un applicateur de disque. Deux disques sont éloignés au minimum de 30 mm de sorte à éviter des chevauchements des zones d'inhibition. Les boîtes sont ensuite laissées à la température ambiante ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) sur la paillasse pendant environ 15 minutes afin de permettre une pré-diffusion des antibiotiques. Avant d'être utilisés, un contrôle interne des disques d'antibiotiques a été effectué conformément aux recommandations du CA-SFM (2016). Les boîtes ensemencées sont ensuite incubées à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24 heures. Les antibiotiques testés sont sélectionnés parmi les molécules actives actuellement sur les entérobactéries et ceux qui sont utilisés le plus couramment par les vétérinaires praticiens dans le traitement des mammites en lactation et / ou hors lactation

#### **1.5.4.3 Lecture et Interprétation des résultats**

La mesure des diamètres d'inhibition est réalisée à l'aide d'un pied à coulisse. Les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Petri fermée. Les valeurs des diamètres d'inhibition obtenues ont permis de classer les souches en : Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistant (R) conformément aux recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (EUCAST/ CA-SFM, 2016). Les souches à résistance intermédiaire (I) ont été catégorisées souches résistantes.



***RESULTATS ET DISCUSSION***

## 2 Résultats et discussion

### 2.1 Analyse descriptive des vaches laitières suivies

Les informations recueillies sur le terrain nous ont permis de faire la répartition des vaches examinées en fonction des races, du stade de lactation et du numéro de lactation.

#### 2.1.1 Répartition des vaches selon la parité

Notre étude porte sur l'analyse des données de 38 vaches primipares et de 112 de vaches multipares (Figure 11).

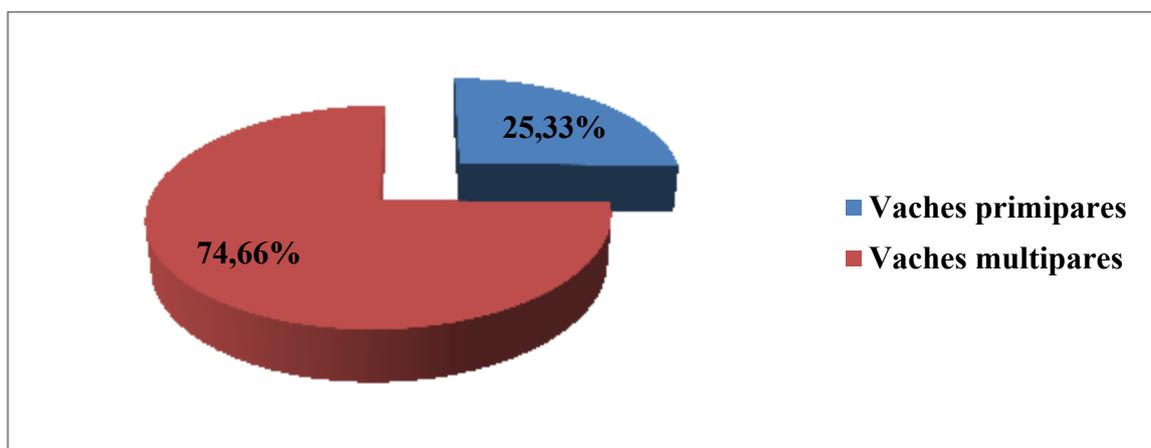


Figure 11: Répartition des vaches selon la parité

#### 2.1.2 Répartition des vaches selon la race

Sur 150 vaches testées, la race Pie Noire Prim'Holstein constitue 70 % du vaches suivies avec 110 vaches et la Montbéliarde 30 % avec 40 vaches (figure 12).

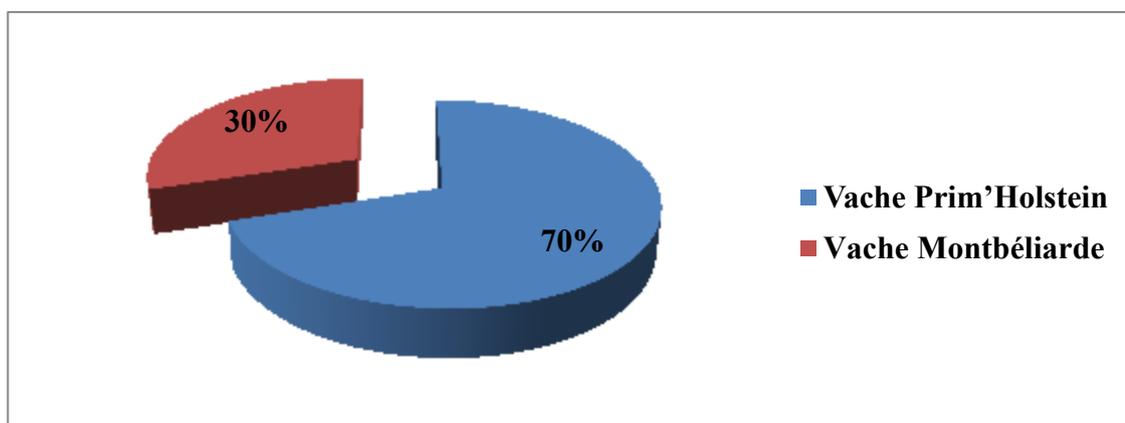


Figure 12: Répartition des vaches selon la race

### 2.1.3 Répartition des vaches selon le stade de lactation

Le période de lactation étude peut être divisé en trois stades : 1ere stade de lactation (moins de 3 mois), 2eme stade lactation (entre 3 et 6 mois), 3eme stade de lactation (supérieur à 6 mois). Notre étude porte a été effectuées sur 80 vaches en 1ere stade de lactation (53%), 40 vaches en 2eme stade lactation (31,33%) et 20 vaches en 3eme stade de lactation (15,33%) (figure 13).

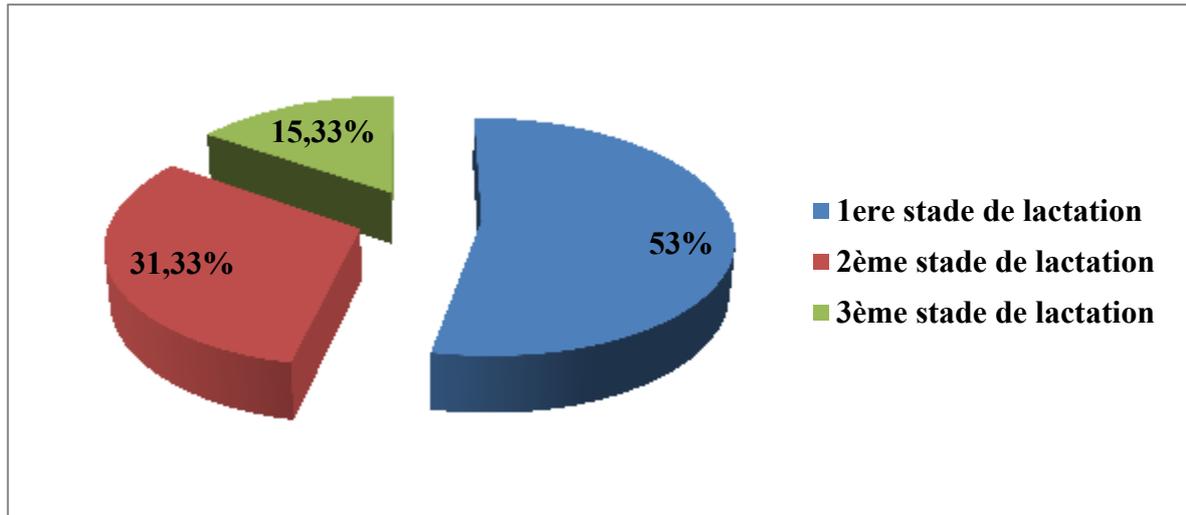


Figure 13: Répartition des vaches selon le stade de lactation

### 2.2 Résultats du CMT

Sur 150 des vaches dépistés ; 48,66 % ont donné des résultats de CMT positifs ( $CMT \geq 2$ ) et 51,33% de négatifs ( $CMT=0$ ) (Figure 14).

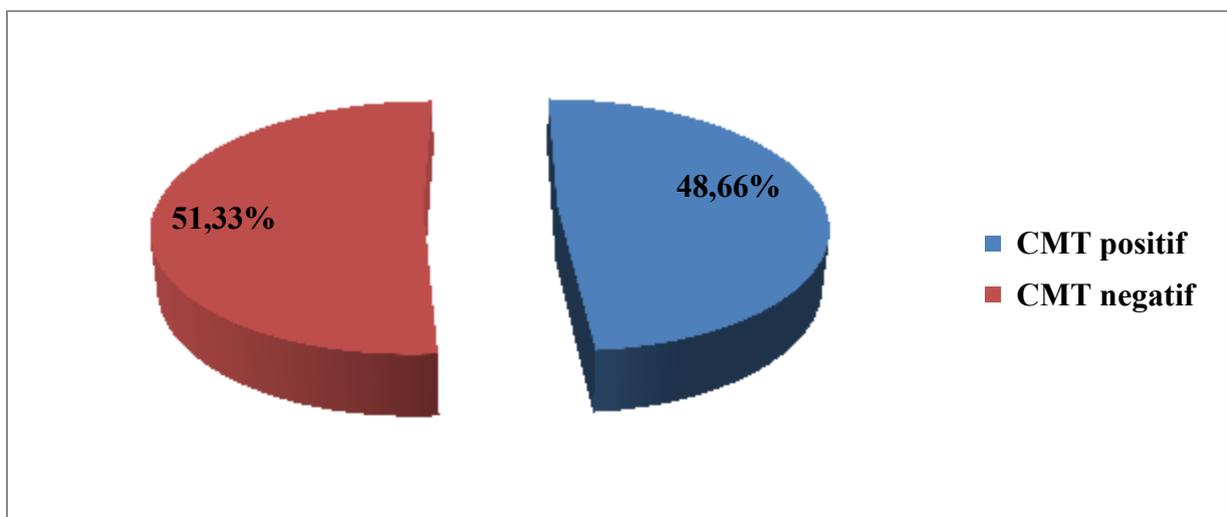


Figure 14: Résultats du CMT par rapport aux vaches examinées

### 2.2.1 Effet du stade de lactation sur les résultats du CMT

La figure ci-dessous (figure 15) montre la différence de la prévalence des mammites subcliniques selon le stade de lactation. Au regard des résultats, A voir une prévalence élevé des mammites subcliniques pendant le 2<sup>ème</sup> stade de lactation (56,25%), au contraire, elle est plus faible dans le début (46,80%) et la fin de lactation (26%).

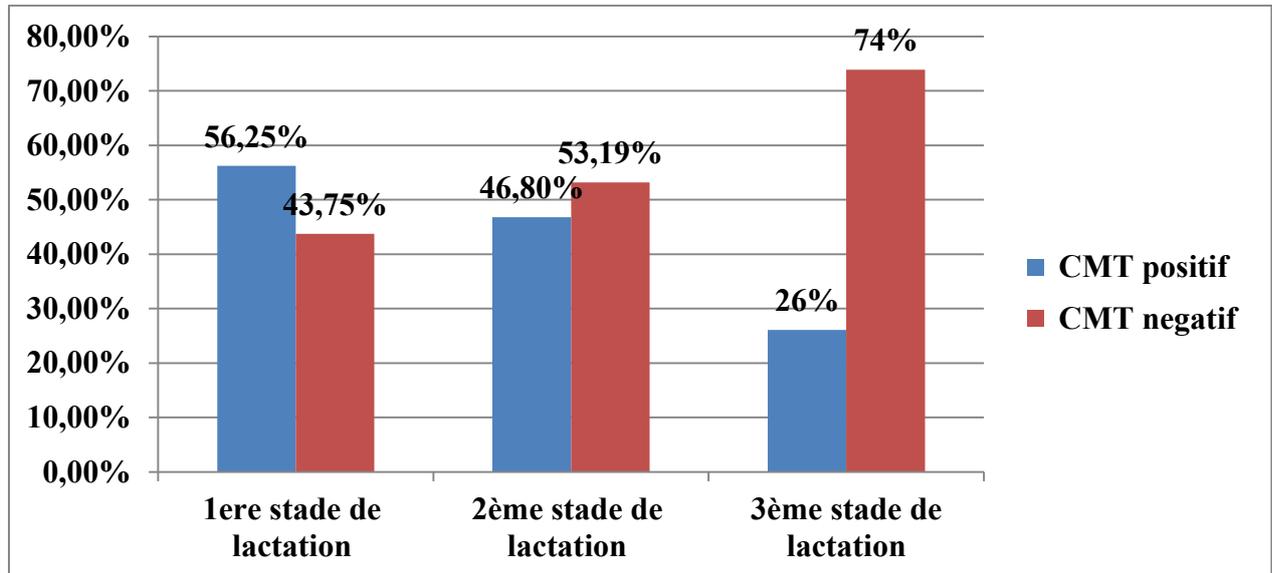


Figure 15: Effet du stade de lactation sur les résultats du CMT

### 2.2.2 Effet du numéro de lactation sur les résultats du CMT

La répartition des mammites subcliniques due à *staphylococcus aureus* en fonction du stade de lactation est présentée dans la figure 16. En première lactation (primipares), il y a plus de vaches négatives au CMT (63,15%) que de vaches positives (36,84%). Le nombre de cas positifs croît ensuite au fur et à mesure que le numéro de lactation augmente (52,67% pour les vaches en deuxième lactation et plus).

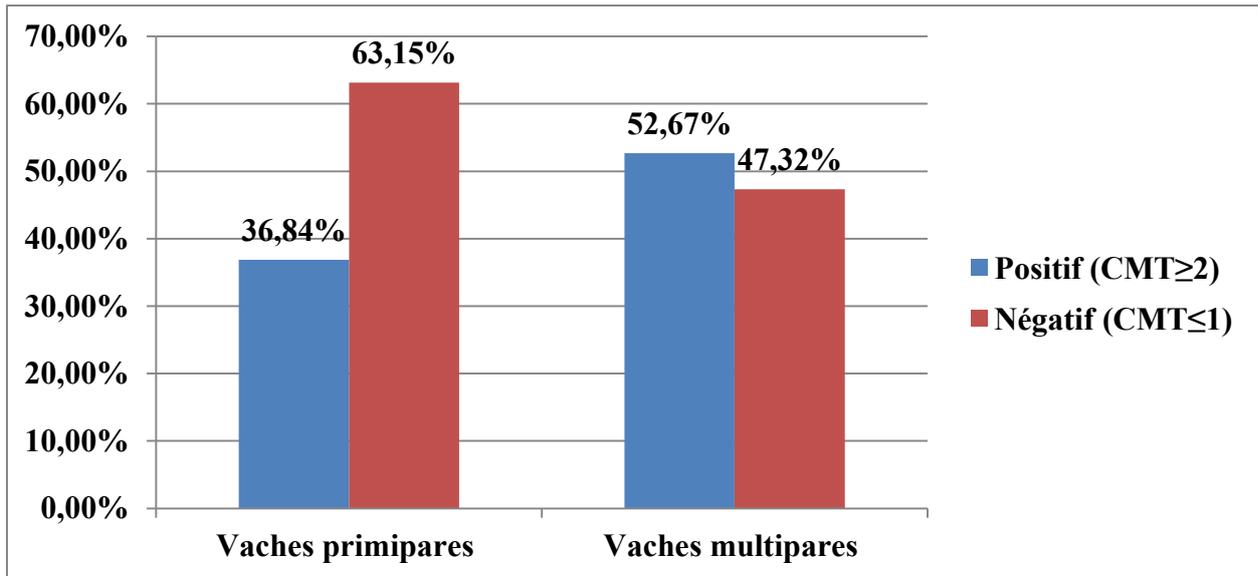


Figure 16: Effet du numéro de lactation sur les résultats du CMT

### 2.2.3 Effet de la race sur les résultats du CMT

La figure 17 représente la répartition des vaches atteintes par les mammites subcliniques par la race. A la lumière des résultats présentés dans la figure ci-dessous, on observe que les vaches de race Prim'Holstein sont plus touchées (51,42%) par rapport à la vache de race montbéliarde (42,22%).

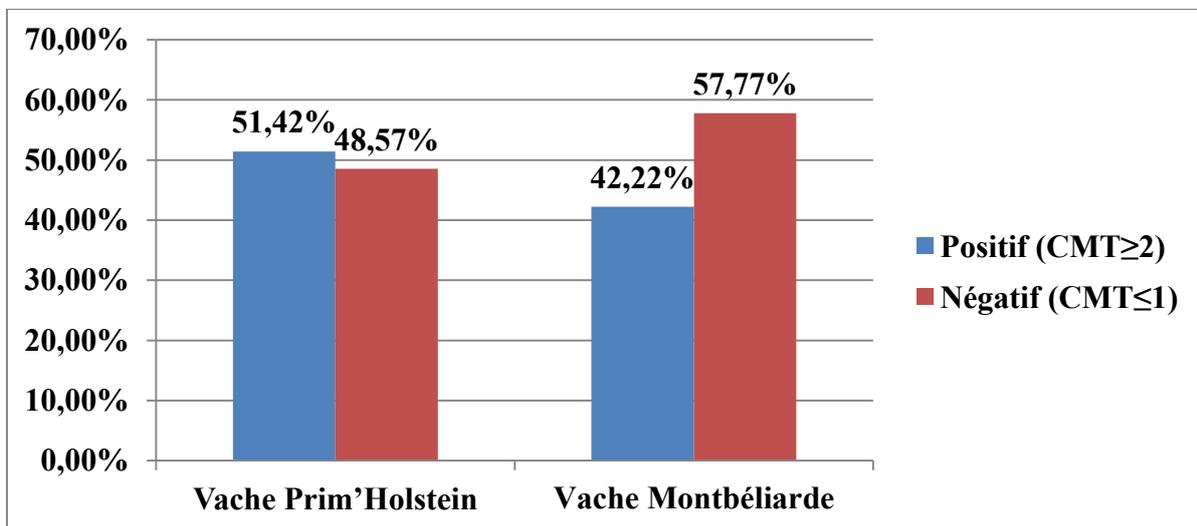


Figure 17: Effet de la race sur les résultats du CMT

### 3 Résultats de l'examen bactériologique

#### 3.1 Prévalence de *Staphylococcus aureus* isolées lors de mammites subcliniques

Les 73 échantillons de lait de mélange provenant de vaches positives au C.M.T (CMT>2) sont analysés bactériologiquement, suite à isolement des cultures, coloration de gram (Figure 18), test catalase (figure 20) et test coagulase (figure 19), parmi les 84, 96% (62/73) souches de staphylocoques, on a identifié 34 souches appartenant à l'espèce de *Staphylococcus aureus* avec un pourcentage de 54,78% et 28 souches appartenant à l'espèce de *Staphylocoques à coagulase négative* avec un pourcentage de 45,22% (Figure22).

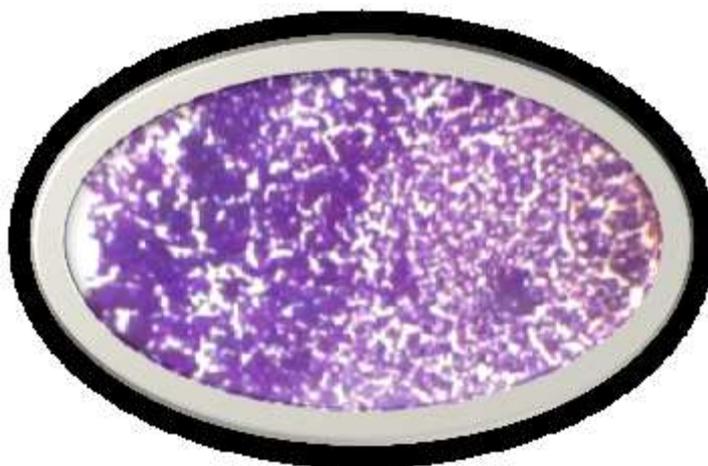


Figure 18: Image microscopique des *S.aureus* après la coloration, de gram



Figure 19: Résultat de test de coagulase



Figure 20: Résultat de test de catalase

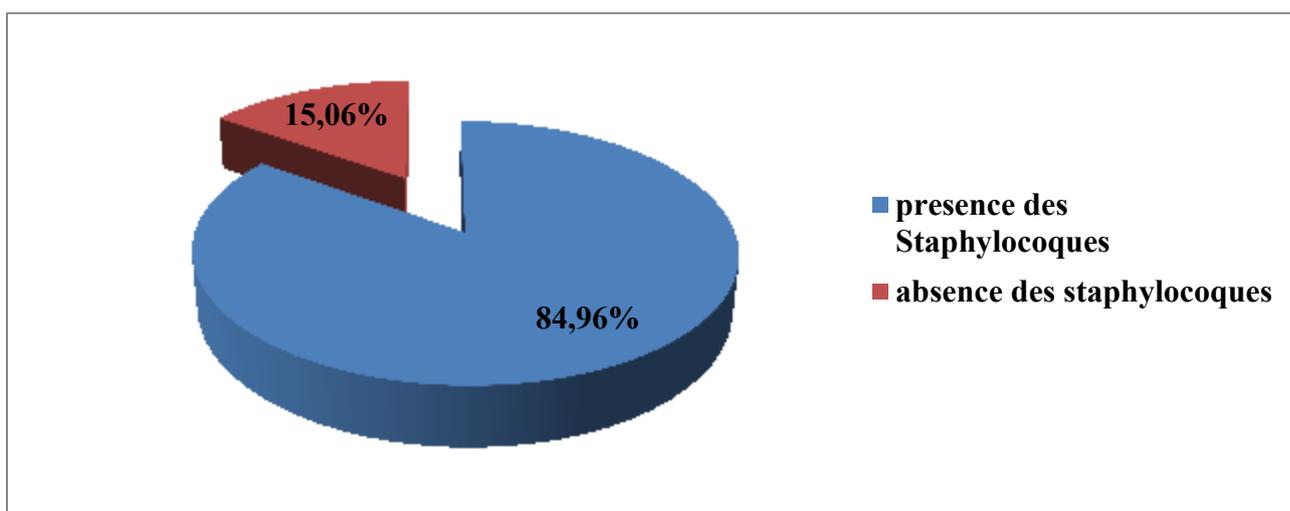


Figure 21: Prévalence de *staphylococcus* isolées lors de mammites subcliniques

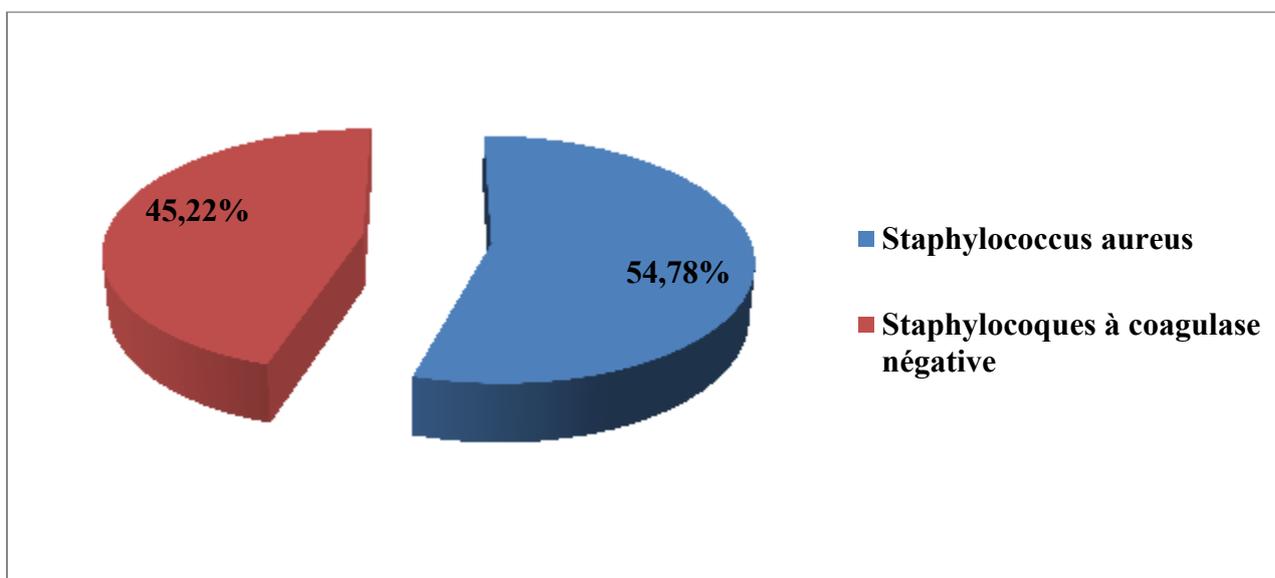


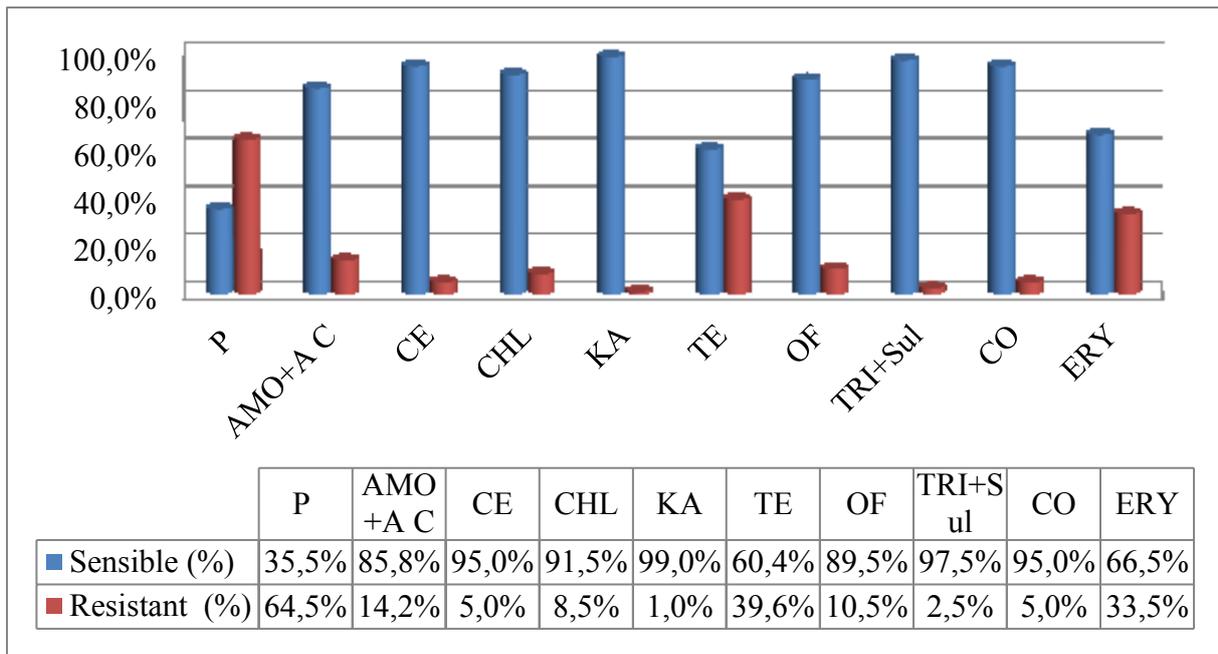
Figure 22: Prévalence de *staphylococcus aureus* isolées lors de mammites subclinique

#### 4 Résultats de l'antibiogramme

L'antibiogramme réalisé sur les souches de *Staphylococcus aureus* révèle que six antibiotiques sur dix testés ont une efficacité de 90% et plus. Selon la Figure 23, l'étude de l'activité antibactérienne des antibiotiques vis-à-vis d'*staphylococcus aureus*, nous a révélé une forte résistance à pénicilline (64,5%), à la tétracycline (39,6%) et à l'érythromycin (33,5%). Concernant le niveau de sensibilité, une sensibilité très élevée a été observée à la chloramphenicol (91,5%), à la colistine sulfate (95%), à la Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole (97,5%), à la Kanamycine(99,0%). Cependant, un taux de sensibilité relativement moyenne a été observé à l'Érythromycine (66,5%).

**Tableau 3: Profil de sensibilité des *S aureus* vis à vis de 10 antibiotiques**

Antibiotiques	Sensible (%)	Resistant (%)
<b>Pénicilline</b>	35,5%	64,5%
<b>Amoxicilline Acide clavulanique</b>	85,8%	14,2%
<b>Céfotaxime</b>	95,0%	5,0%
<b>Chloramphénicol</b>	91,5%	8,5%
<b>Kanamycine</b>	99,0%	1,0%
<b>Tétracycline</b>	60,4%	39,6%
<b>Ofloxacin</b>	89,5%	10,5%
<b>Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole</b>	97,5%	2,5%
<b>Colistine sulfate</b>	95,0%	5,0%
<b>Érythromycine</b>	66,5%	33,5%



**Figure 23: Pourcentage de sensibilité et de résistance des staphylococcus aureus aux antibiotiques**

### 5 Discussion

Les mammites subclinique sont les affections les plus communes et les plus coûteuses pour les producteurs de lait ce qui en fait une problématique majeure pour l'industrie laitière, dans la plupart des pays du monde. Les mammites à *S. aureus* sont également un problème de santé publique potentiel puisque plus de la moitié des souches isolées de lait de glande infectées possèdent des gènes d'entérotoxines (Le Loir et al., 2003; Rall et al., 2014). Le relargage depuis les glandes infectées vers le lait est généralement modéré (moins de 10 000 UFC/mL), mais la contamination du lait de tank peut conduire à des intoxications alimentaires dans les produits fermentés non pasteurisés (Le Loir et al., 2003; Le Maréchal et al., 2011). Ainsi, l'émergence de la résistance aux antimicrobiens parmi les agents pathogènes affectant la santé animale est une préoccupation croissante en médecine vétérinaire (Rehman et al., 2017).

Les données relatives à la prévalence des mammites chez la vache varient d'une étude à une autre. Dans notre étude, en termes de prévalence on a enregistré 48,66% cas de mammites subcliniques chez les vaches laitières testés. Nos résultats sont supérieur à ceux enregistrées dans le centre et l'East de l'Algérie, 37,6% (Zaatout et al., 2019) et 28,5% (Saidi et al., 2013), respectivement, et aussi dans Bishoftu ville en Éthiopie 40,1 % (Birhanu et al., 2017). Ces données sont inférieures à celles rapportées dans le centre Algérie (66.4%)

(Ghalache et al., 2021), au Bangladesh 64,9% (Hoque et al., 2014), au Kenya 73,1% (Mbindyo et al., 2020), en Ouganda 86,2 % (Abrahmsén et al., 2013), au Népal (42,8%) (Bhandari et al., 2021) et dans ouest d'Algérie (62,8%) (Meskini et al., 2021). Cette variation de la prévalence de la mammites bovine entre les études pourrait être attribuée à la différence dans la gestion des fermes, l'environnement de l'élevage ou les tests de diagnostic utilisés. De plus, ces différentes fluctuations de la prévalence observées dans les différentes études pourraient être attribuées au niveau d'hygiène des bâtiments d'élevages. D'ailleurs, l'hygiène de la traite a été jugée globalement déficiente dans la plupart des élevages suivies. Le simple lavage des trayons était négligé, parfois pratiqué à l'aide d'une lavette collective avec de l'eau uniquement et sans être suivi d'essuyage. L'élimination des premiers jets avant la traite se faisait généralement sur le sol sous la vache, présentant ainsi un facteur de risque de contamination de la surface de couchage de la vache.

Les vaches sont plus sensibles aux mammites durant les périodes de lactation (Abdeta et al., 2020). De fait, la majorité des infections surviennent lors des trois premiers mois de la lactation (56,25%), 46,80% et 26% d'entre elles survient pendant le 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> stade lactation. La prévalence élevée des mammites au début de lactation dans notre étude est en accord avec celles rapportées en Ethiopie par Abéra et al. (2010) et en Algérie par Akou et al (2016) et Ferroudj et al (2021). L'absence de traitement pendant la période de tarissement associée au stress de vêlage peut générer des taux élevés au début de lactation.

En effet, Radostits et al. (2000) ont suggéré que la sensibilité de la glande mammaire aux nouvelles infections est plus élevée au début et à la fin de la période sèche. Celle-ci pourrait être due à l'absence de lavage et de trempage des trayons à l'origine de l'augmentation de la présence d'agents pathogènes potentiels sur la peau des trayons. Par ailleurs, la baisse significative des prévalences enregistrées pendant le 3<sup>ème</sup> et le 4<sup>ème</sup> mois qui coïncident avec la phase des productions importantes, pourrait justifier les efforts thérapeutique et prophylactique ayant pour objectifs respectifs de contrer les infections de début de lactation et de prévenir les nouvelles infections. Enfin, l'effet allaitement sur l'apparition des mammites à *S. aureus* observés dans notre étude pourraient définir l'importance de la formation de bouchon muqueux au niveau de canal de trayon dans la protection de la mamelle.

Les résultats du CMT montrent que les races les plus touchées par les mammites subcliniques sont les vaches de race Prim'Holstein (51,42 %) et les vaches de race

Montbéliarde viennent en seconde position avec un pourcentage de 42,22 %. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **Taher et al (2020)** dans la région de bordj Bou Arreridj. Ils ont montré que la race a un effet direct sur l'apparition des mammites subcliniques, surtout les vaches hautement productrices comme l'Holstein. Cependant, les résultats trouvés par **Mammeri et Benmakhlouf (2016)**, ont montré que la race n'a pas d'effet sur la prévalence des mammites subcliniques.

Concernant la prévalence des mammites cliniques en fonction de la parité, dans notre étude, nous avons constaté que la proportion la plus élevée des mammites subcliniques a été enregistrée chez les vaches multipares (52,67%) suivie par les vaches primipares (36,84). Ces résultats sont similaires à celles rapportées par de nombreux auteurs qui montrent que la prévalence des mammites augmente avec l'âge des vaches (**Hanzen, 2013, Taher et al., 2020 ; Aidat et Haouchine , 2020, Ranasinghe e al., 2021**). Ces résultats peuvent être expliqués par la baisse des défenses naturelles au niveau de la glande mammaire qui accompagne le vieillissement des animaux. Ainsi, le canal du trayon devient plus dilaté après chaque lactation, prédisposant davantage la vache aux infections mammaires.

*Staphylococcus aureus* est une bactérie très robuste dans l'environnement, pouvant survivre dans des conditions extrêmes de température et d'humidité. Elle est décrite comme une cause majeure des infections intra-mammaires chez les vaches laitières avec de fortes prévalences dans les exploitations de moins de trente vaches (**Kalmus et al., 2011**). Dans l'ensemble, *S. aureus* est souvent considéré comme l'un des agents étiologiques les plus couramment incriminé en mammite clinique et subclinique chez les vaches laitières. Il est en effet, impliqué dans 54,78 % atteints de mammite subclinique dans notre étude.

Le taux enregistré dans notre étude est élevé par rapport à celui obtenu au Niger par **Bada-Alamedji et al (2014)**, par **Benhamed et al (2013)** dans la région d'Oran et par **Akkou et al (2016)** qui est de 38,63%, 38,98% et 74% respectivement. **Giannechini et al., 2002** ont enregistré un pourcentage d'isolement de *Staphylococcus aureus* de 62,8% à l'Uruguay. Un taux de 54, 4% a été rapporté dans le Sud de l'**Ethiopie par Abebe., et al en (2016)**.

Plusieurs études effectuées dans les autres régions d'Algérie ont montré une forte fréquence d'implication de *S. aureus* dans les mammites bovines. Des taux d'implication de *S. aureus* de 30,3% et 40% dans les cas de mammites subcliniques ont été enregistrés

respectivement dans les régions Est et centre de l'Algérie (**Boufaïda-Asnoune et al., 2012 ; Saidi et al., 2013**).

Toutefois, la comparaison entre les résultats de ces différentes études doit se faire avec prudence car les méthodes de l'échantillonnage et les techniques de culture bactérienne peuvent différer. La prévalence relativement élevée des mammites à *S. aureus* dans les troupeaux bovins laitiers algériens pourrait être liée aussi bien au défaut de sensibilisation des producteurs de lait sur l'importance des mammites subcliniques, qu'à l'absence d'une législation stricte imposant un contrôle régulier de la qualité du lait. En plus des règles d'hygiène qui sont défectueuses, aucun contrôle sanitaire de routine ne se fait sur les glandes mammaires des vaches appartenant aux troupeaux étudiés, soit par un dépistage mensuel au CMT, par le comptage des cellules somatiques des laits de mélange, ni par des mesures quotidiennes de la conductivité électrique du lait.

À travers les résultats obtenus, on observe une grande variation de la résistance aux antibiotiques testés. Les souches de *Staphylococcus aureus* ont montré un fort niveau de résistance à la pénicilline (64,5%) et une résistance moyenne à l'érythromycine (33,5%) et tétracycline (39,6). Ces résultats pourraient être attribués à un mauvais usage de ces antibiotiques en élevage. Cette forte prévalence de la résistance aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines serait due à l'utilisation souvent abusive et non contrôlée des bêta-lactamines en élevage et leur faible coût. Nôtres résultats est conforme aux conclusions des études précédentes, menées en Algérie ainsi que dans d'autres pays, ont rapporté cette résistance élevée aux bêta-lactamines chez les souches de *S aureus* (**Saidi et al., 2019 ; Aslantaş et al., 2016 ; Liu et al., 2017 ; Ndahetuye et al., 2020 ; Ren, et al., 2020**). Dans cette étude, des faibles résistances pour le la amoxicilline+ acide clavulanique et ofloxacine ont été signalés dans les souches isolées de *S aureus*. Cette faible résistance pourrait s'expliquer par son efficacité et par la faible utilisation de ces antibiotiques en raison de leur prix élevé par rapport à de nombreux autres agents.

La détection *S. aureus* à partir de lait de vache atteint de mammites subclinique a été signalée dans le monde entier, en particulier à la pénicilline G. Notre étude a montré que la résistance de *S. aureus* à la pénicilline G était la plus élevée parmi les antibiotiques testés, ce qui est conforme à précédentes études (**Oliver et Murinda, 2012**). Nos résultats concordent avec ceux annoncés par plusieurs auteurs qui signalent que les souches de *S. aureus* résistent vis-à-vis ces deux molécules. **Chaalal et al., (2018)** ont annoncé un taux de résistance de

63.3% vis-à-vis la pénicilline concernant des souches isolées de divers produits alimentaires (lait pasteurisé, viande, pâtisseries et plats cuisinés). Le pourcentage élevé de résistance des isolats de *S. aureus* à la pénicilline et tétracycline est peut-être dû à l'administration exagérée de ces antimicrobiens dans les fermes laitières (**Jamali et al., 2015**). De fortes résistances vis-à-vis cette molécule d'antibiotique ont été signalées chez des souches de *S. aureus* isolées du lait et de produits laitiers (**Visiano et al., 2014 ; Jamali et al., 2015 ; Yang et al., 2016 ; Papadopoulos et al., 2018**). Cette forte résistance à la pénicilline est due probablement à la production de  $\beta$ -lactamases, enzymes inactivant la pénicilline et autres molécules appartenant à la famille des  $\beta$ -lactamines (**Moroni et al., 2006**).

La pénicilline, parmi les différentes bêta-lactamines, est largement utilisée depuis plus de 50 ans tant chez les vaches en lactation (thérapeutique) que tarie (thérapeutique et prophylactique) dans les élevages bovin laitiers, ce qui est considéré comme favorisant l'apparition de la résistance contre ce médicament (**Page et Gautier, 2012**). Cependant, dans certains pays nordiques européens comme la Suède, la Norvège et le Danemark, où la pénicilline est le médicament de choix pour traiter la mammite à *S. aureus*, la résistance à la pénicilline est faible et a peu changé au cours des dernières décennies. Cela a été attribué aux caractéristiques distinctes de l'utilisation des antibiotiques dans ces pays sur la base d'une législation stricte concernant le diagnostic des cas cliniques et la prescription d'antibiotiques, soutenue par une large conformité à ces réglementations (**Persson et al., 2011 ; Chehabi et al., 2019**).

Les tétracyclines sont des agents antimicrobiens à large spectre fréquemment utilisés dans le traitement des infections chez les bovins (**Chajacka-Wierzchowska et al., 2016**). Dans notre étude, le taux de résistance était de 39,6 %. Dans le même pays pour des études similaires, le taux de résistance était de 34,28 % (**Saidi et al., 2019**). La forte prévalence de la résistance aux tétracyclines a été signalée chez *S. aureus* provenant de différentes sources (**Andre et al., 2008 ; Gundogan et Avci, 2014 ; Jamali et al., 2015**).

Le taux de résistance à la tétracycline retrouvé dans notre étude était plus élevé que ceux trouvés par Wang et al. (2018 ; 1,0 %), par Wang et al. (2016 ; 5,7 %), et par Liu et al. (2017 ; 13,0 %), mais inférieur aux résultats obtenus par Wu et al. (2019 ; 65,7 %), suggérant que les taux de résistance de *S. aureus*, comme pour les autres bactéries, varient selon les régions et sont influencés par l'utilisation d'agents antimicrobiens. Nos résultats dans cette étude le confirment, car nous avons trouvé une différence dans la résistance à la tétracycline

entre les régions. La tétracycline représente l'une des plus anciennes molécules utilisées, tant en thérapeutique qu'en préventif, générant des taux remarquablement élevés résistance.



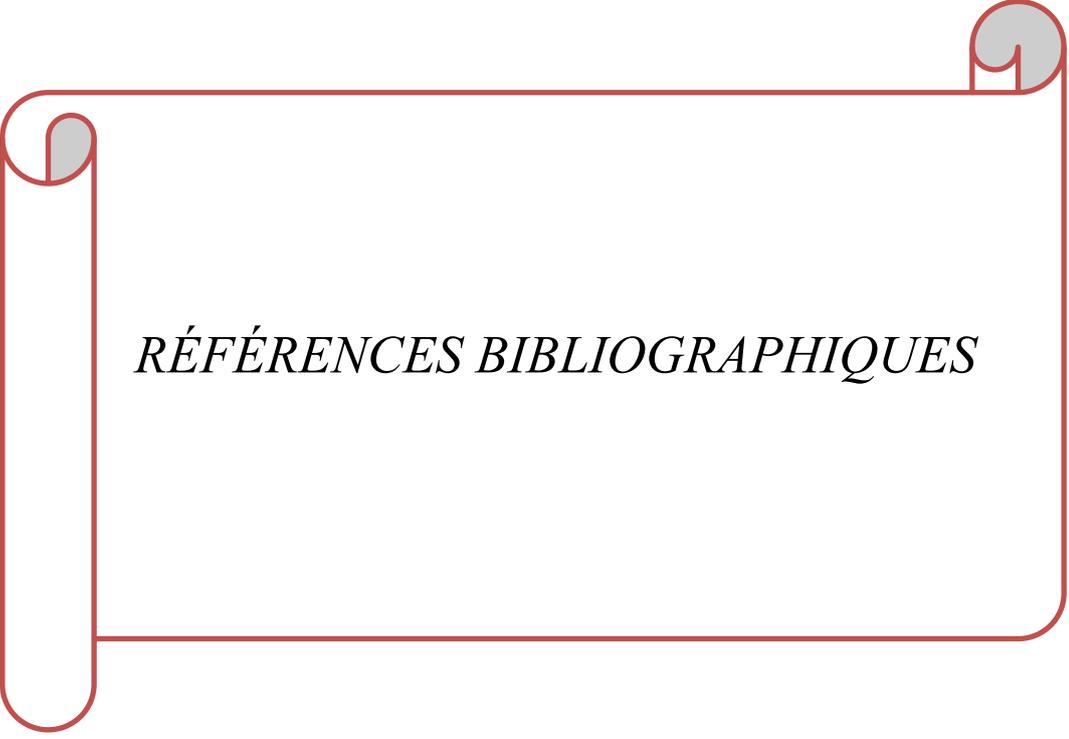
*CONCLUSIONS ET  
RECOMMANDATIONS*

## CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

À la lumière des résultats obtenus à partir de cette étude accomplie sur l'élevage bovin laitier dans la région d'Ain Témouchent, il s'avère que les mammites demeurent l'une des pathologies dominantes qui sévissent dans les élevages bovins. La prospection des vaches en lactation au sein des élevages d'Ain Témouchent reflète le fardeau que représentent les infections intra-mammaires pour les éleveurs et les transformateurs. On enregistre en effet, 48,66%(73/150 vaches) cas de mammites subcliniques chez les vaches laitières dépistés. Or, l'analyse bactériologique des échantillons de lait mammitieux montre, la prévalence des mammites dues au *Staphylococcus aureus* est 54,78%.

L'utilisation abusive des antibiotiques en thérapeutique vétérinaire justifie l'ampleur de la pression de sélection exercée sur les germes du portage au sein des élevages. L'étude de l'activité antibactérienne des antibiotiques vis-à-vis d'*staphylococcus aureus*, nous a révélé une forte résistance à penicilline (64,5%), à la tétracycline (39,6%) et à l'érythromycine (33,5%). Concernant le niveau de sensibilité, une sensibilité très élevée a été observée à la chloramphenicol (91,5%), à la colistine sulfate (95%), à la Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole (97,5%), a la Knamycine(99%). Cependant, un taux de sensibilité relativement moyenne a été observé à l'Érythromycine (66,5%). L'impact économique se justifie par des pertes occultes liées aux mammites subcliniques et à la contagiosité des germes tels que les staphylocoques, ayant pour réservoir les trayons infectés ainsi qu'aux échecs thérapeutiques.

En fin, notre travail a montré que les infections intra mammaires restent un sérieux problème. Pour améliorer la production et préserver la santé du consommateur, une lutte efficace contre les mammites s'avère indispensable. Pour en réduire l'incidence et la prévalence, la mise en place de plans de lutte contre les mammites se justifie donc pleinement. Il faut agir à deux niveaux : limiter les nouvelles infections et diminuer les taux des infections existantes. Les mammites subcliniques doivent faire l'objet d'un dépistage régulier et périodique dans les exploitations de bovins laitiers afin de construire une base de données et un historique de la santé de la mamelle pour chaque vache laitière de manière individuelle. Ainsi, on dispose de données permettant de prendre une décision quant à la conduite à tenir pour le traitement de mammitite subclinique et d'en prévenir d'autres dans l'exploitation.



*RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES*

*REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES*

**Allard, M., Moisan, H., Brouillette, É., Gervais, A. L., Jacques, M., Lacasse, P., Diarra, M. S., Malouin, F., 2006.** Transcriptional modulation of some *Staphylococcus aureus* iron-regulated genes during growth in vitro and in a tissue cage model in vivo. *Microbes Infect* 8, 1679–1690.

**Almeida, R. A., and S. P. Oliver. 2001.** Interaction of coagulase-negative *Staphylococcus* species with bovine mammary epithelial cells. *Microb. Pathog.* 31(5):205-212

**Alves, P. D. D., McCulloch, J. A., Even, S., Le Maréchal, C., Thierry, A., Grosset, N., Azevedo, V., Rosa, C. A., Vautor, E. & Le Loir, Y., 2009.** Molecular characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from small and large ruminants reveals a host rather than tissue specificity. *Vet Microbiol* 137, 190–195.

**Ananthanarayan, Paniker., 2006.** Textbook of Microbiology. Edition Seventh, India. 665pages.

**Andrews, S. C., Robinson, A. K. & Rodríguez-Quñones, F., 2003.** Bacterial iron homeostasis. *FEMS Microbiol Rev* 27, 215–237.

**Atalla, H., Gyles, C. & Mallard, B.. 2010.** Persistence of a *Staphylococcus aureus* small colony variants (*S. aureus* SCV) within bovine mammary epithelial cells. *Vet Microbiol* 143, 319–328.

**Bannerman, D. D., Paape, M. J. & Chockalingam, A., 2006.** *Staphylococcus aureus* intramammary infection elicits increased production of transforming growth factor- $\alpha$ ,  $\beta$ 1, and  $\beta$ 2. *Vet Immunol Immunopathol* 112, 309–315.

**Bhatia A, Zahoor S. 2007.** *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 3:188-197.

**Bouchard, D., Peton, V., Almeida, S., Le Marechal, C., Miyoshi, A., Azevedo, V., Berkova, N., Rault, L., Francois, P. & other authors. 2012.** Genome Sequence of *Staphylococcus aureus* Newbould 305, a strain associated with mild bovine mastitis. *J Bacteriol* 194, 6292–6293.

**Bougarn, S., P. Cunha, F. B. Gilbert, A. Harmache, G. Foucras, and P. Rainard. 2011.** Staphylococcal-associated molecular patterns enhance expression of immune defense genes induced by IL-17 in mammary epithelial cells. *Cytokine* 56(3):749-759.

**Bradley, A. 2002.** Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet. J.* 164(2):116-128.

**Breche P., Gaillard J., Simonet M. 1988.** Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie Bactéries des infections humaines” Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 267-277.195.

**Brenaut, P., Lefèvre, L., Rau, A., Laloë, D., Pisoni, G., Moroni, P., Bevilacqua, C. & Martin, P.. (2014).** Contribution of mammary epithelial cells to the immune response during early stages of a bacterial infection to *Staphylococcus aureus*. *Vet Res* 45, 16.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Cassat, J. E., Hammer, N. D., Campbell, J. P., Benson, M. A., Perrien, D. S., Mrak, L. N., Smeltzer, M. S., Torres, V. J. & Skaar, E. P. 2013.** A secreted bacterial protease tailors the *Staphylococcus aureus* virulence repertoire to modulate bone remodeling during osteomyelitis. *Cell Host Microbe* 13, 759–772.
- Cha, E., D. Bar, J. A. Hertl, L. W. Tauer, G. Bennett, R. N. González, Y. H. Schukken, F. L. Welcome, and Y. T. Gröhn. 2011.** The cost and management of different types of clinical mastitis in dairy cows estimated by dynamic programming. *J. Dairy Sci.* 94:4476-4487.
- Chaneton, L., Tirante, L., Maito, J., Chaves, J. & Bussmann, L. E.. 2008.** Relationship between milk lactoferrin and etiological agent in the mastitic bovine mammary gland. *J Dairy Sci* 91, 1865–1873.
- Cheng, A. G., McAdow, M., Kim, H. K., Bae, T., Missiakas, D. M. & Schneewind, O., 2010.** Contribution of coagulases towards *Staphylococcus aureus* disease and protective immunity. *PLoS Pathog* 6, e1001036.
- Clement, S., Vaudaux, P., François, P., Schrenzel, J., Huggler, E., Kampf, S., Chaponnier, C., Lew, D. & Lacroix, J.-S. 2005.** Evidence of an intracellular reservoir in the nasal mucosa of patients with recurrent *Staphylococcus aureus* rhinosinusitis. *J Infect Dis* 192, 1023–1028.
- Damm, M., Holm, C., Blaabjerg, M., Bro, M.N., and Schwarz, D., 2017.** Differential somatic cell count. A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd Improvement testing programs. *J. Dairy Sci.* 100, 4926–4940.
- Denis F., poly M.C., Martin C., Bingen E., Quentin R. 2007.** Bactériologies médicale : techniques usuelles. Edition Elsevier Masson. pp 27-251.
- Di Giannatale E., Vincenza P., Alfreda T., Cristina M., Giacomo M. 2011.** Characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food for human consumption. *Veterinria Italiana*, 47(2), 165-173.
- Fadlelmula, A., A. M. Al Dughaym, G. E. Mohamed, M. K. Al Deib, and A. J. Al Zubaidy., 2009.** Bovine mastitis: epidemiological, clinical and etiological study in a Saudi Arabian large dairy farm. *Bulg. J. Vet. Med.* 12:199-206.
- Fasquelle R. 1974.** *Eléments de bactériologie médicale* .9ème édition. Flammarion, Paris. 27-36.
- Fasquelle R. 1974.** *Eléments de bactériologie médicale* .9ème édition. Flammarion, Paris. 27-36.
- Couture B. 1990.** *Bactériologie médicale «Etude et méthodes d’identification des bactéries aérobies et facultatives d’intérêt médical».* Vigot, Paris.15-32.
- Fauchere J.L. and Avril J.L. 2002.** *Bactériologie générale et médicale.* Ellipses, Paris. 213-21.
- Ferron A. 1984.** *Bactériologie médicale à l’usage des étudiants en médecine.* 12ème édition. CROUAN et ROQUES, Paris. 87-94.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Foster T.J. 2017.** Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. FEMS Microbiol. Rev. 41: 430-449.
- Fournier, B., and A. Klier. 2004.** Protein A gene expression is regulated by DNA supercoiling which is modified by the ArlS-ArlR two-component system of *Staphylococcus aureus*. Microbiology 150(11):3807-3819.
- Garzoni, C., Francois, P., Huyghe, A., Couzinet, S., Tapparel, C., Charbonnier, Y., Renzoni, A., Lucchini, S., Lew, D. P. & other authors., 2007.** A global view of *Staphylococcus aureus* whole genome expression upon internalization in human epithelial cells. BMC Genomics 8, 171.
- Giguere S., Prescott J.F. Et Dowling P.M., 2013.** Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, 5th Edition. Wiley-Blackwell, pp. 519-334.
- Gougoulis, D., Kyriazakis, I., Tzora, A., Taitzoglou, I., Skoufos, J. & Fthenakis, G.. 2007.** Effects of lamb sucking on the bacterial flora of teat duct and mammary gland of ewes. Reprod Domest Anim.
- Guiraud J.P., Rosec J.P., 2004.** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR, Paris. pp 168-178.
- Halasa T, Nielen M, De Roos AP, Van HR, de JG, Lam TJ, van WT, Hogeveen H & HR Van, 2009.** Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model. J Dairy Sci, 92:599-606.
- Haveri, M., Hovinen, M., Roslof, A., Pyorala, S., 2008.** Molecular types and genetic profiles of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine intramammary infections and extramammary sites. J. Clin. Microbiol. 46:3728-3735.
- Heilmann, C., 2011.** Adhesion mechanisms of *Staphylococci*. In Bact Adhes, Advances in Experimental Medicine and Biology, pp. 105–123. Edited by D. Linke & A. Goldman. Springer Netherlands.
- Hertl, J. A., Y. H. Schukken, F. L. Welcome, L. W. Tauer, and Y. T. Gröhn. 2014.** Pathogen-specific effects on milk yield in repeated clinical mastitis episodes in Holstein dairy cows. J. Dairy Sci. 97:1465-1480.
- Holden MT & JA Lindsay, 2008.** Whole Genomes: Sequence, Microarray and Systems Biology. In: *Staphylococcus: Molecular Genetics*. J. A. Lindsay (ed). Norfolk, UK : Caister Academic Press.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Joshi L.R., Tiwari A., Devkota S.P., Khatiwada S., Paudyal S. and Pande K.R. 2014** Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Dairy Farms of Pokhara, Nepal. *Inter. J. Vet. Sci.* 3: 87-90.
- Kalinka, J., Hachmeister, M., Geraci, J., Sordelli, D., Hansen, U., Niemann, S., Oetermann, S., Peters, G., Löffler, B. & Tuchscher, L. 2014.** *Staphylococcus aureus* isolates from chronic osteomyelitis are characterized by high host cell invasion and intracellular adaptation, but still induce inflammation. *Int J Med Microbiol.*
- Kampen, A. H., T. Tollersrud, and A. Lund. 2005.** *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharide types 5 and 8 reduce killing by bovine neutrophils in vitro. *Infect. Immun.* 73(3):1578-1583.
- Khan M.Z. and A. Khan. 2006.** Basic facts of mastitis in dairy animals: a review. *Pakistan Vet. J.* 26(4):204-208.
- Krakaeur T., Pradhan K. and Stiles B.G. 2016.** Staphylococcal Superantigens Spark Host-Mediated Danger Signals. *Front Immunol* 7: 23.
- Krut, O., O. Utermohlen, X. Schlossherr, and M. Kronke. 2003.** Strain-specific association of cytotoxic activity and virulence of clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *Infect. Immun.* 71(5):2716-2723.
- Lacasse, P., Lauzon, K., Diarra, M. S. & Petitclerc, D.. 2008.** Utilization of lactoferrin to fight antibiotic-resistant mammary gland pathogens. *J Anim Sci* 86, 66–71.
- Le Loir Y, Baron F, Gautier M. 2003.** *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* 2 : 63-76.
- Le Loir Y. and M. Gautier. 2010.** Monographie de microbiologie : *Staphylococcus aureus*. Lavoisier. Tec&Doc.
- Le Loir Y. and M. Gautier. 2010.** Monographie de microbiologie: *Staphylococcus aureus*. Lavoisier. Tec&Doc
- Sordillo, L. M., and K. L. Streicher. 2002.** Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *J. Mammary. Gland. Biol. Neoplasia.* 7(2):135-146.
- Le Maréchal, C., Jan, G., Even, S., McCulloch, J. A., Azevedo, V., Thiéry, R., Vautor, E. & Le Loir, Y.. 2009.** Development of serological proteome analysis of mastitis by *Staphylococcus aureus* in ewes. *J Microbiol Methods* 79, 131–136.
- Le Maréchal, C., Jardin, J., Jan, G., Even, S., Pulido, C., Guibert, J.-M., Hernandez, D., François, P., Schrenzel, J. & other authors. 2011.** *Staphylococcus aureus* seroproteomes discriminate ruminant isolates causing mild or severe mastitis. *Vet Res* 42, 35.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Li Z., Peres A.G., Damian A.C. and Madrenas J., 2015.** Immunomodulation and Disease Tolerance to *Staphylococcus aureus*. *Pathogens*, 4: 793-815.
- Liu G.Y. and Nizet V. 2009.** Color me bad: microbial pigments as virulence factors. *Trends Microbiol.* 17: 406-413.
- Loir Y. and Gautier M. 2010** *Staphylococcus aureus*. Monographie de Microbiologie, Edition Tec&Doc.
- Ludwing .W. ,S.Schleifer.,K.H. ,Fox,G.E. ,Seewaldt,E.et Stachebrandt,E.1981.** phylogenetic analysis of *Staphylococci*,*peptococcus saccharolyticus* and *Micrococcus mucilaginosus*.*JGen Microbiol.*125 :357-366.
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., & Maguire, D. 2013.** Clinical veterinary microbiology: Elsevier Health Sciences:105-433.
- McCarthy A.J., Witney A.A. and Lindsay J.A. 2012** *Staphylococcus aureus* temperate bacteriophage: carriage and horizontal transfer is lineage associated. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2: 6.
- Metzner, M., Sauter-Louis, C., Seemueller, A., Petzl, W. & Klee, W.. 2014.** Infrared thermography of the udder surface of dairy cattle: Characteristics, methods, and correlation with rectal temperature. *Vet J* 199, 57–62.
- Meza, A. Bravo-Patiño, VM. Baizabal-Aguirre. 2007.** Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J. Infect.* 54(4):399-409.
- 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.
- Middleton, J. R., 2008.** *Staphylococcus aureus* antigens and challenges in vaccine development. *Expert Rev Vaccines* 7, 805–815.
- Newson S.W.B. 2009** Ogston's coccus. *J. Hosp. Infect.* 70: 369-372
- Ogston A. 1882.**Micrococcus poisoning. *J. Anat. Physiol.* 16: 526–567.
- Paape, M. J., and W. P. Wergin. 1977.** The leukocyte as a defense mechanism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 170(10):1214-1223.
- Paape, M. J., D. D. Bannerman, X. Zhao, and J. W. Lee. 2003.** The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk. *Vet. Res.* 34(5) :597-627.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Paape, M., J. Mehrzad, X. Zhao, J. Dettileux, and C. Burvenich.** 2002. Defense of the bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocytes. *J. Mammary. Gland. Biol. Neoplasia.* 7(2):109-121.
- Pellerin JL, 2010.** Infections à *Staphylococcus aureus* chez l'animal (hors mammites) In : LeLoire Y, Gautier M (Eds), *Staphylococcus aureus*, Lavoisier, Paris, pp. 203-210.
- Pérez-Cabal, M. A., G. De los Campos, A. I. Vazquez, D. Gianola, G. J. M. Rosa, K. A. Weigel, and R. Alenda.** 2009. Genetic evaluation of susceptibility to clinical mastitis in Spanish Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 92:3472-3480.
- Pérez-Cabal, M. A., S. Yaici, and R. Alenda., 2008.** Clinical mastitis in Spanish dairy cows: incidence and costs. *Span. J. Agric. Res.* 6:615-622.
- Peton V & Y Le Loir, 2014.** *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. *Infect genetics Evol,* 21:602-615.
- Pinedo, P. J., C. Fleming, and C. A. Risco.** 2012. Events occurring during the previous lactation, the dry period, and peripartum as risk factors for early lactation mastitis in cows receiving 2 different intramammary dry cow therapies. *J. Dairy Sci.* 95:7015-7026.
- Prescott,L.M ,Harly,J.P.etKlein, 2010.** Microbiologie.2ème Edition Francaise.De boeuniversite.
- Pyörälä S and S. Taponen.** 2009. Coagulase-negative staphylococci-emerging mastitis pathogens. *Vet Microbiol.* 134(1-2):3-8.
- Rainard P & F Gilbert, 2010.** Les mammites dues à *Staphylococcus aureus* In : Le Loire Y, Gautier M (Eds), *Staphylococcus aureus*, Lavoisier, Paris, pp. 211-232.
- Rainard, P.** 2007. *Staphylococcus aureus* leucotoxin LukM/F' is secreted and stimulates neutralising antibody response in the course of intramammary infection. *Vet. Res.* 38(5):685-696.
- Rainard, P. & Riollet, C.** 2006. Innate immunity of the bovine mammary gland. *Vet Res* 37, 369–400.
- Rainard, P., & Riollet, C.** 2003. Mobilization of neutrophils and defense of the bovine
- Rasigade, J. P., Moulay, A., Lhoste, Y., Tristan, A., Bes, M., Vandenesch, F., Etienne, J., Lina, G., Laurent, F. & Dumitrescu, O., 2011.** Impact of sub-inhibitory antibiotics on fibronectin-mediated host cell adhesion and invasion by *Staphylococcus aureus*. *BMC Microbiol* 11, 263.
- Riollet, C., Rainard, P. & Poutrel, B., 2001.** Cell subpopulations and cytokine expression in cow milk in response to chronic *Staphylococcus aureus* infection. *J Dairy Sci* 84, 1077–1084.
- Roberson, J. R., Fox, L. K., Hancock, D. D., Gay, J. M. & Besser, T. E.. 1994.** Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. *J Dairy Sci* 77, 3354–3364.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Rowbotham, R. F. and P. L. Ruegg. 2016.** Associations of selected bedding types with incidence rates of subclinical and clinical mastitis in primiparous Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99:4707-4717.
- Royster E., Wagner S. 2015.** Treatment of mastitis in cattle. *The Veterinary Clinics Food Animal Practice.*, 31, pp.17–46.
- Sakwinska, O., Giddey, M., Moreillon, M., Morisset, D., Waldvogel, A. & Moreillon, P.. 2011.** *Staphylococcus aureus* host range and human-bovine host shift. *Appl Environ Microbiol* 77, 5908–5915.
- Sanchez, C. J., Ward, C. L., Romano, D. R., Hurtgen, B. J., Hardy, S. K., Woodbury, R. L., Trevino, A. V., Rathbone, C. R. & Wenke, J. C., 2013.** *Staphylococcus aureus* biofilms decrease osteoblast viability, inhibits osteogenic differentiation, and increases bone resorption in vitro. *BMC Musculoskelet Disord* 14, 187.
- Santana, R. C. M., Zafalon, L. F., Esteves, S. N., Tanaka, E. V., Pilon, L. E. & Massa, R. 2013.** Occurrence of etiologic agents causing subclinical mastitis in Morada Nova and Santa Ines ewes. *Ars Vet* 29, 148–152.
- Sinha, B. & Fraunholz, M.. 2010.** *Staphylococcus aureus* host cell invasion and post-invasion events. *Int J Med Microbiol* 300, 170–175.
- Skoufos, I., Voidarou, C., Bezirtzoglou, E. & Tzora, A.. 2006.** Effects of machine-milking on the bacterial flora of teat duct and mammary gland of ewes. *J Vet Med Ser B* 53, 499–501.
- Sordillo, L. M. 2005.** Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Livestock Production Science*, 98(1): 89-99.
- Sordillo, L. M., K. Shafer-Weaver, and D. DeRosa. 1997.** Immunobiology of the mammary gland. *J. Dairy Sci.* 80(8):1851-1865.
- Spicer W.J. 2003.** *Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie.* Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 28-29.
- Stephen H.G., Hawkey M.P. 2006.** *Principles and practice of clinical bacteriology - 2 éme edition.* Birmingham, John Wiley and Sons. pp 73-86.
- Szweda, P., Schielmann, M., Milewski, S., Frankowska, A. & Jakubczak, A. 2012.** Biofilm production and presence of ica and bap genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows with mastitis in the eastern Poland. *Pol J Microbiol Pol Tow Mikrobiol Pol Soc Microbiol* 61, 65–69.
- 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.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Valerio A., Pérez-Rodríguez F., Carrasco E., Fuentes-Alventosa J.M., García-Gimeno R.M. and Zurera G. 2009** Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus* : Effect of temperature, pH and water activity. Int. J. Food. Microbiol. 133: 186-194.
- Vautour, E., Cockfield, J., Le Marechal, C., Le Loir, Y., Chevalier, M., Robinson, D. A., Thiery, R. & Lindsay, J.. 2009.** Difference in virulence between *Staphylococcus aureus* isolates causing gangrenous mastitis versus subclinical mastitis in a dairy sheep flock. Vet Res 40, 56.
- Vestergaard M., Frees D. and Ingmer H. 2019.** Antibiotic Resistance and the MRSA Problem. Microbiol. Spectr. 7 : GPP3-0057-2018.
- Viguier, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K., and O’Kennedy, R. 2009.** Mastitis detection: current trends and future perspectives. Trends Biotechnol. 27, 486–493.
- Viguier, 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.
- Wellnitz O, Kerr DE., 2004.** Cryopreserved bovine mammary cells to model epithelial response to infection. Vet Immunol Immunopathol. 101(3-4):191-202.
- Wolf, J., M. Wolfová, and M. Štípková., 2010.** A model for the genetic evaluation of number of clinical mastitis cases per lactation in Czech Holstein cows. J. Dairy Sci. 93:1193-1204.
- 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.

## Résumé

*Staphylococcus aureus* est un des pathogènes majeurs impliqués dans les mammites chez les vaches laitières. Les mammites à *S. aureus* ont la particularité de présenter des tableaux cliniques très variables selon les souches et évoluent fréquemment vers la chronicité. Cette étude vise à évaluer la prévalence des mammites subclinique due aux *Staphylococcus aureus* dans la région d'Ain Témouchent. Nous avons procédé, chez 150 vaches en lactation, au dépistage par Californian Mastitis Test (CMT). Les laits positifs au CMT ont subi des analyses bactériologiques. Nos résultats montrent que la mammite reste une pathologie dominante dans l'élevage bovin. En effet, nous avons enregistré une prévalence de 48,66% cas de mammite subclinique, *S. aureus* est impliqué dans 54,78 % atteints de mammite subclinique. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré l'existence de résistances, avec des proportions variables selon les familles d'antibiotiques. En effet, nous a révélé une forte résistance à penicilline (64,5%), à la tétracycline (39,6%) et à l'erythromycin (33,5%). Concernant le niveau de sensibilité, une sensibilité très élevée a été observée à la chloramphenicol (91,5%), à la colistine sulfate (95%), à la Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole (97,5%), a la Knamycine(99%). Ces résultats ouvrent la voie à des études plus approfondies sur certaines fonctions qui pourront être la cible de stratégies de lutte contre les mammites à *S. aureus*.

**Mots clés :** *Staphylococcus aureus*, mammite, Californian Mastitis Test

## Abstract

*Staphylococcus aureus* is one of the major pathogens involved in mastitis in dairy cows. Mastitis with *S. aureus* have the particularity of presenting clinical presentations very variable according to the strains and frequently evolve towards chronicity. This study aims to assess the prevalence of subclinical mastitis due to *Staphylococcus aureus* in the region of Ain Témouchent. We tested 150 lactating cows for Californian Mastitis Test (CMT). The CMT-positive milks were tested bacteriologically. Our results show that mastitis remains a dominant pathology in cattle farming. Indeed, we have recorded a prevalence of 48.66% cases of subclinical mastitis, *S. aureus* is involved in 54.78% with subclinical mastitis. The study of antibiotic susceptibility showed the existence of resistance, with varying proportions depending on the families of antibiotics. Indeed, we found strong resistance to penicillin (64.5%), tetracycline (39.6%) and erythromycin (33.5%). Sensitivity levels were very high for chloramphenicol (91.5%), colistin sulfate (95%), Trimethoprim+ Sulfamethooxazole (97.5%), and Knamycin (99%). These results pave the way for more in-depth studies on certain functions that may be the target of mastitis control strategies in *S. aureus*.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, mastitis, Californian Mastitis Test

## ملخص

المكورات العنقودية الذهبية هي واحدة من مسببات الأمراض الرئيسية المشاركة في التهاب الثدي في الأبقار الحلوب. التهاب الثدي الذي تسببه بكتيريا المكورة العنقودية الذهبية له خصوصية تقديم العروض السريرية متغيرة جداً وفقاً للسلاسل ويتطور كثيراً نحو التسلسل الزمني. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم انتشار التهاب الثدي تحت السريري بسبب المكورات العنقودية الذهبية في منطقة عين تيموشنت. اختبرنا 150 بقرة مرضعة لاختبار التهاب الثدي في كاليفورنيا (CMT). تم اختبار الحليب الإيجابي CMT من الناحية البكتريولوجية. تظهر نتائجنا أن التهاب الثدي لا يزال أمراضاً مهيمنة في تربية الماشية. في الواقع، سجلنا انتشاراً بنسبة 48.66% من حالات التهاب الثدي تحت السريري، ويشارك بكتيريا المكورة العنقودية الذهبية في 54.78% مع التهاب الثدي تحت السريري. أظهرت دراسة قابلية المضادات الحيوية وجود مقاومة، بنسب متفاوتة اعتماداً على عائلات المضادات الحيوية. في الواقع، وجدنا مقاومة قوية للبنسلين (64.5%) والتتراسيكلين (39.6%) والإريثروميسين (33.5%). كانت مستويات الحساسية عالية جداً للكورامفينيكول (91.5%)، وكبريتات الكوليستين (95%)، وتريميثوبريم + سلفاميثوكسازول (97.5%)، وكناميسين (99%). تمهد هذه النتائج الطريق لدراسات أكثر تعمقاً حول وظائف معينة قد تكون هدفاً لاستراتيجيات مكافحة التهاب الثدي الذي تسببه بكتيريا المكورة العنقودية الذهبية

**الكلمات المفتاحية:** المكورات العنقودية الذهبية، التهاب الضرع، اختبار التهاب الضرع في كاليفورنيا