

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie et Microbiologie



Mémoire

De fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Microbiologie Appliquée

***Prévalence et antibiorésistance des bactéries
responsables de mammites chez les vaches laitières***

Réalisé par :

✚ Mr AILAM Mouloud
✚ Melle AKERMOUN Dina

Soutenu le : **11 Juillet 2022**

Devant le jury :

| | | | |
|----------------------|----------------|-----------|--------------------|
| Melle DERMECHE S. | M.C.B | UMMTO | Présidente du jury |
| Mr TITOUCHE Y. | M.C.A | UMMTO | Promoteur |
| Mme KECHIH BOUNAR S. | Dr Vétérinaire | L.R.V.T.O | Co-promotrice |
| Melle ASMANI K. | M.C.A | UMMTO | Examinatrice |

Année Universitaire : 2021-2022

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie et Microbiologie



Mémoire

De fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Microbiologie Appliquée

***Prévalence et antibiorésistance des bactéries
responsables de mammites chez les vaches laitières***

Réalisé par :

✚ Mr AILAM Mouloud
✚ Melle AKERMOUN Dina

Soutenu le : **11 Juillet 2022**

Devant le jury :

| | | | |
|----------------------|----------------|-----------|--------------------|
| Melle DERMECHE S. | M.C.B | UMMTO | Présidente du jury |
| Mr TITOUCHE Y. | M.C.A | UMMTO | Promoteur |
| Mme KECHIH BOUNAR S. | Dr Vétérinaire | L.R.V.T.O | Co-promotrice |
| Melle ASMANI K. | M.C.A | UMMTO | Examinatrice |

Année Universitaire : 2021-2022

REMERCIEMENTS

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

Nous tenons à présenter nos sincères remerciements à notre promoteur Monsieur TITOUCHE Y et notre co-promotrice Madame KECHIH BOUNAR S, pour leurs aides précieuses et leur soutien qu'ils nous ont apporté durant la préparation de ce mémoire et leurs encouragements afin de réaliser ce modeste travail de recherche et de nous avoir permis d'évaluer nos connaissances dans la filière.

Mes remerciements les plus vifs, pour Melle ASMANI K et Melle DERMECHE S d'avoir accepté de présider le jury et d'examiner le travail. Nos grands et spéciaux remerciements à tous les membres du laboratoire régional de la médecine vétérinaire de DRAA-BEN-KHEDDA, pour leurs aides en mettant leur laboratoire à notre disponibilité, ce qui nous a permis d'enrichir cette recherche dans son côté pratique.

Nous tenons aussi à remercier tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail de près ou de loin.

Dédicaces

A ma mère qui a toujours été là pour moi-même dans mes pires moments et qui m'a tout donner.

A mon père aussi qui m'a beaucoup aidé surtout lors de ma préparation de mon mémoire.

A ma petite sœur Elïana, mon âme sœur, que j'aime très fort malgré nos disputes.

A tout le reste de ma famille et mes amis qui m'ont soutenu.

A mon binôme Mouloud qui a supporté toutes mes humeurs.

A la directrice madame KECHIH et aux employés du Laboratoire Régional de la Médecine Vétérinaire de Draa-Ben-Khedda, pour leur bienveillance et leur soutien, et qui m'ont orienté lors de mon stage pratique.

A monsieur TITOUCHE, mon promoteur, qui a été très patient et qui a fait de son mieux pour nous aider à avancer et à mettre toutes les chances de la réussite de mon côté.

A la mémoire de mon grand-père très cher Mhend qui serait très heureux et fier de moi de me voir réussir et qui j'aurai aimé qu'il assiste à ma soutenance.

DINA

Dédicaces

Je dédie ce mémoire ;

En hommage et à la mémoire de mes grands parents ;

A mes chers parents,

Pour leur soutien et leurs encouragements,

*C'est à vous que je dois le mérite pour ce que je suis devenu
aujourd'hui.*

Puisse Dieu le Tout Puissant, vous préserver et vous garder pour moi.

A ma petite sœur adorée SARA ;

Ainsi qu'à toute ma famille et mes amis.

A mon binôme DINA avec qui j'ai partagé de bons moments

A mes chers professeurs,

Je leur exprime ma profonde gratitude.

*A tous les vétérinaires et les techniciens du Laboratoire Régional de
la Médecine Vétérinaire de Draa-Ben-Khedda, pour leur bienveillance
et leur soutien.*

Enfin à Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de cet ouvrage.

*Une spéciale dédicace, à une personne qui a été très patiente et
bienveillante avec moi : Mr TITOUCHE ; Trouvez dans ce modeste
travail ma sincère gratitude et reconnaissance. Ce travail est le votre.*

MOULOUD

Table des matières

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Chapitre I : Physiologie de la mamelle bovine et composition du lait

| | |
|--|---|
| I. Physiologie de la mamelle bovine..... | 1 |
| I.1. Conformation du pis | 1 |
| I.2. Conformation de la mamelle | 1 |
| I.3. Les alvéoles mammaires..... | 2 |
| I.4. Conformation du trayon | 3 |
| I.5. Lait de vache et ses principaux composants..... | 4 |
| I.5.1. Propriétés physico-chimiques du lait..... | 5 |
| I.5.2.Composition microbiologique du lait | 6 |
| I.5.2.1. Bactéries lactiques | 7 |
| I.5.2.3.Bactéries pathogènes | 7 |
| I.5.2.2.Bactéries saprophytes..... | 7 |

Chapitre II : Les mammites

| | |
|--|----|
| II.1. Définition de la mammite..... | 9 |
| II.2. Types de mammites | 9 |
| II.2.1. Mammites latentes | 9 |
| II.2.2. Mammites cliniques | 9 |
| II.2.2.1. Mammites suraiguës | 10 |
| II.2.2.1.1.Mammites gangréneuses | 10 |
| II.2.2.2. Mammites aiguës | 10 |
| II.2.3. Mammites chroniques | 10 |

| | |
|--|----|
| II.2.4. Mammites subcliniques | 11 |
| II.3. Germes responsables de mammites..... | 11 |
| II.3.1.Germes majeurs responsables de mammites..... | 11 |
| II.3.1.1. Staphylocoque doré ou <i>Staphylococcus aureus</i> | 11 |
| II.3.1.2.Streptocoques | 12 |
| II.3.1.3. <i>Escherichia coli</i> | 13 |
| II.3.2 Germes mineurs responsables de mammites | 14 |
| II.4. Facteurs influençant les mammites | 15 |
| II.5. Méthodes de dépistage des mammites | 16 |

Chapitre III : Impacts des mammites

| | |
|---|----|
| III.1. Impacts des mammites sur la qualité du lait (propriétés physico-chimiques et microbiologiques du lait) | 18 |
| III.2. Impacts des mammites sur la santé du consommateur | 18 |
| III.2.1. Présence de résidus d'antibiotiques dans le lait | 19 |
| III.2.2. Apparition de bactéries multi-résistantes | 20 |
| III.3. Impacts économiques des mammites sur les éleveurs et les industries laitières | 22 |

Chapitre IV: Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| IV.1. Objectif et plan pratique | 25 |
| IV.1.1 Objectif de l'étude | 25 |
| IV.1.2 Plan pratique | 25 |
| IV.2. Matériel et méthodes | 25 |
| IV.2.1. Matériel, réactifs et milieux de culture | 25 |
| IV.2.1.1. Pour la réalisation des prélèvements | 25 |
| IV.2.1.2. Pour l'analyse microbiologique | 25 |
| IV.2.1.3. Pour les tests biochimiques | 26 |
| IV.2.1.4 Pour la réalisation d'antibiogrammes | 27 |
| IV.2.2. Méthodes | 27 |

| | |
|---|----|
| IV.2.2.1. Présentation de la zone d'étude | 27 |
| IV.2.2.2 Population animale de l'étude | 28 |
| IV.3. Échantillonnage | 28 |
| IV.3.1. Prospection des lieux et dépistage des vaches atteintes ou suspectées | 28 |
| IV.3.2. Collecte des échantillons du lait | 28 |
| IV.4. Isolement et identification des bactéries responsables de mammites | 28 |
| IV.4.1. Purification des souches isolées | 29 |
| IV.4.2. Identification des souches (tests biochimiques) | 29 |
| IV.4.3. Réalisation des antibiogrammes | 30 |

Chapitre V : Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| V.1. Résultats | 33 |
| V.1.1. Prévalence des germes responsables de mammites | 34 |
| V.1.2. Résistance des souches isolées aux antibiotiques | 36 |
| V.1.2.1. Résistance des souches de <i>S. aureus</i> isolées..... | 36 |
| V.1.2.2. Résistance des souches d' <i>E. coli</i> isolées | 37 |
| V.1.2.3. Résistance des souches de <i>Providencia</i> isolées..... | 39 |
| V.1.2.4. Résistance des souches de <i>Streptococcus</i> spp isolées | 41 |
| V.2. Discussions | 43 |

Conclusion

Références

Annexes

Liste des figures

| Figure | Intitulé | Page |
|---------------|---|-------------|
| 01 | La glande mammaire (HANZEN, 2008) | 1 |
| 02 | Anatomie de la glande mammaire de vache (CHARTON, 2017). | 2 |
| 03 | Conformation de l'alvéole (BOUICHOU, 2009) | 3 |
| 04 | Anatomie du trayon (BOUCHARD, 2013). | 4 |
| 05 | Photo du <i>Staphylococcus aureus</i> prise par microscopie électronique (HOPKINS, 2021). | 12 |
| 06 | Photo des Streptocoques prise par microscopie électronique (CDC, 2021). | 13 |
| 07 | Photo microscopique d' <i>Escherichia coli</i> (BENSAKHRIA, 2018) | 14 |
| 08 | Photo du Test CMT (CHAUMARD, 2020) | 16 |
| 09 | Les mécanismes de résistance des bactéries vis-à-vis des antibiotiques (DOUBLET et al, 2012). | 22 |
| 10 | Localisation géographique des élevages laitiers investigués dans l'étude. | 26 |
| 11 | Répartition des échantillons du lait mamiteux selon le type de bactérie isolée | 35 |
| 12 | Profil de résistance de la souche de <i>S.aureus</i> D26 (photo prise au laboratoire) | 37 |
| 13 | Profil de résistance de la souche d' <i>E.coli</i> D10 (photo prise au laboratoire) | 39 |
| 14 | Profil de résistance de la souche de Providencia V39 (photo prise au laboratoire) | 41 |

Liste des tableaux

| Tableau | Intitulé | Page |
|----------------|---|-------------|
| 01 | Prévalence des mammites cliniques et sub cliniques chez la vache laitière à Tizirt et à Ouaguenoune | 33 |
| 02 | Profil de résistance des souches de <i>Staphylococcus aureus isolées</i> | 36 |
| 03 | Profil de résistance des souches d' <i>Escherichia coli isolées</i> | 38 |
| 04 | Profil de résistance des souches de <i>Providencia isolées</i> | 40 |
| 05 | Profil de résistance des souches de <i>Streptococcus isolées</i> | 41 |

Liste des abréviations

| Abréviation | Signification |
|--------------------|--|
| °C | Degré Celsius |
| °D | Degré Dornic |
| µm | Micromètre |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| ARNt | Acide ribonucléique de transfert |
| BHIB | Bouillon cœur-cerveille (Brain Heart Infusion Broth). |
| BLSE | Béta-lactamases à spectre étendu |
| C3G | Céphalosporines de troisième génération |
| CCSI | Comptage individuel des cellules somatiques |
| CEM | Cellules épithéliales mammaires |
| CLSI | Clinical and Laboratory Standards Institute |
| CMT | Californian Mastitis Test |
| HCl | Acide chlorhydrique |
| MG | Matière Grasse |
| ml | Millilitre |
| SARM | <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticilline |
| TP | Taux protéique |
| TSI | Triple sugar iron |

Résumé

Dans le but d'étudier la prévalence des bactéries responsables de mammites chez le bovin laitier et leur résistance aux antibiotiques, nous avons effectué 144 prélèvements du lait issus de 28 exploitations laitières différentes au niveau de deux régions : Tizirt et Ouaguenoune (Tizi-Ouzou). Les prélèvements collectés ont été soumis à la recherche de quelques genres bactériens responsables de mammites, et ceci en faisant recours à des géloses sélectives. Les isolats obtenus ont été soumis à une identification biochimique, suivie de l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques par la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques sur la gélose Mueller-Hinton, selon les recommandations du CLSI (2020).

Les résultats obtenus de cette étude montrent une faible prévalence des mammites bovines. En effet, sur les 144 prélèvements effectués, uniquement 41 (28.47%) se sont révélés positifs, incluant des cas de mammites cliniques et des cas de mammites subcliniques. Un total de 48 souches bactériennes ont été isolées, incluant 29 souches de *S. aureus*, 12 d'*Escherichia coli*, 2 de *Providencia* sp et 5 de *Streptococcus* sp.

En ce qui concerne la résistance aux antibiotiques, toutes les souches de *S. aureus* isolées étaient résistantes vis-à-vis de la pénicilline. De faibles résistances à l'encontre de la tétracycline, l'érythromycine et le triméthoprim/Sulfaméthoxazole ont été enregistrées, avec des valeurs de 10.3%, 10.3% et 3.44%, respectivement.

Pour *E.coli*, 91.6% des souches sont résistantes à l'amoxicilline, 66.66% sont résistantes à l'ampicilline et 16.6% des souches sont résistantes à la tétracycline. La totalité des souches de *Providencia* sp sont résistantes à l'ampicilline, la nitrofurantoïne et la céftiofure. Alors que, 50% des souches avaient une résistance contre l'amoxicilline/acide clavulanique. Dans le cas des streptocoques isolés, 100% sont résistantes à la pénicilline, à la tétracycline, à la streptomycine et à la lincomycine, tandis que la résistance à l'ampicilline est de 80%.

Les résultats de cette étude suggèrent la mise en œuvre d'un programme pour le contrôle des mammites, basé sur l'application des règles d'hygiène et le recours à des alternatives pour le traitement de ces infections, dans le but de diminuer la recrudescence des bactéries résistantes aux antibiotiques.

Mots clés : Mammite, prévalence, antibiorésistance, bovin laitier, multi-résistance.

Introduction

Le lait de vache est parmi les aliments, les plus consommés en Algérie. 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 éleveurs de bovins laitiers, ainsi que les transformateurs. Ces défis ne pourraient être relevés sans les meilleures connaissances des agents étiologiques impliqués dans les mammites, mais aussi par l'élaboration des stratégies adéquates de lutte et de prévention. La rentabilité d'un élevage laitier dépend étroitement de la maîtrise de l'alimentation et du contrôle de certaines pathologies comme les infections mammaires résultant de l'action de micro-organismes pathogènes très variés (FARTAS et *al*, 2017).

En effet, la mammite est l'une des maladies qui causent beaucoup de pertes économiques dans les élevages à travers le monde (BRADLEY, 2002), non seulement à cause de la baisse de la production du lait et les 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 (BLOWEY, 2010). Cette notion de pertes économiques est cependant difficile à situer dans les conditions actuelles d'élevage en Algérie.

La détermination exacte de type de bactéries responsables de la mammite est une étape importante pour le choix thérapeutique, dans le but d'un contrôle et d'une prise en charge efficace de ces infections mammaires dans les élevages laitiers (BRADLEY et *al*, 2000). De plus, l'apparition de certaines bactéries pathogènes, résistantes aux antibiotiques, pourraient potentiellement nuire à la santé humaine (CHARTIER, 2009).

Pour cela, afin de mener cette étude avec succès, nous avons établi les démarches suivantes :

- Estimer la prévalence de mammites (cliniques et subcliniques) chez la vache laitière ;
- Isoler et identifier quelques genres bactériens responsables de l'apparition de la mammite ;
- Etudier la sensibilité des souches bactériennes isolées vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotiques, dans le but de mettre en évidence les formes de multirésistances.

Chapitre I : Physiologie de la mamelle bovine et composition du lait

I. Physiologie de la mamelle bovine

I.1. Conformation du pis

La mamelle est une glande tégumentaire sécrétant le lait. La vache possède quatre trayons accolés en région inguinale appelées : quartiers, formant le pis. Ce dernier est divisé par des sillons intra mammaires (ligaments) séparant ainsi les quartiers gauches et droits anatomiquement (figure 01) (PAVAUX et BARONE, 2001).



Figure 01 : La glande mammaire (HANZEN, 2008)

Chaque quartier est composé d'un corps et d'un trayon (papille). Le trayon s'ouvre sur un unique orifice papillaire par lequel s'écoule le lait.

Un appareil dit suspenseur sépare les quartiers gauche et droit formant alors le ligament médian du pis et est composé d'un tissu fibreux élastique. C'est la structure de soutien la plus importante car elle est la plus puissante. Quand le pis est rempli de lait il devient lourd (il pèse entre 14 et 32 kg vide et peut dépasser les 50 kg chez la vache forte productrice (BILLON, 2009) et exerce une traction importante sur ce ligament. Son rôle est d'assurer la suspension du pis lourd et de bloquer le passage des bactéries d'un quartier à un autre (PAVAUX et BARONE., 2001). Un autre ligament dit latéral enveloppe la partie supérieure du pis et formé de tissu conjonctif moins élastique et rigide (membrane conjonctive) (REMY, 2010).

I.2. Conformation de la mamelle

Chaque quartier comporte une glande mammaire et des conduites lactifères menant à un seul sinus lactifère (citerne) qui est réparti en citerne glandulaire (dans le corps) et citerne papillaire (dans le trayon) (PAVAUX et BARONE, 2001).

La glande mammaire est composée de lobes mammaires divisés à leur tour en lobules. Chaque lobule est formé d'alvéoles ayant pour rôle de synthétiser le lait (figure 02) (PAVAUX et BARONE, 2001).

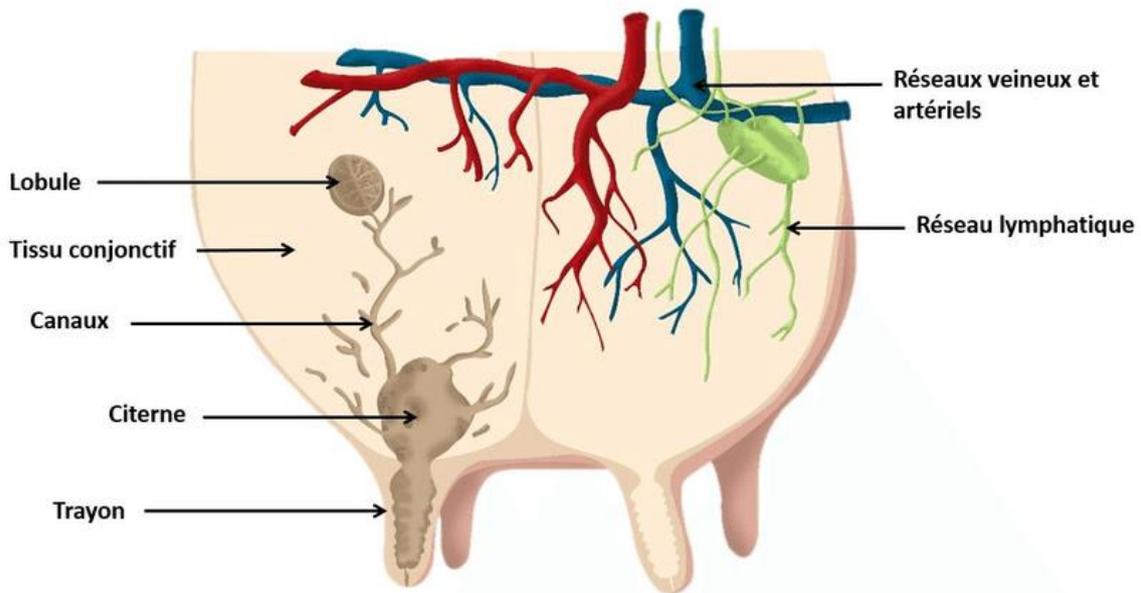


Figure 02 : Anatomie de la glande mammaire de vache (CHARTON, 2017).

I.3. Les alvéoles mammaires

L'alvéole appelée aussi acini mammaire représente le tissu sécréteur de lait de la mamelle et est entourée de stroma. Il est constitué de lactocytes internes : ce sont des cellules épithéliales mammaires productrices de lait (CEM) (CHARTON, 2016), un réseau artérioveineux périphérique apportant les nutriments, un canal galactophore qui évacue le lait une fois synthétisé dans la citerne glandulaire et des cellules myoépithéliales externes (muscle) (figure 03) (HANZEN, 2008) dont la contraction et la production de l'ocytocine : une hormone transportée par voie sanguine provoquant la contraction des cellules myoépithéliales et sa sécrétion est stimulée par l'éjection des premiers jets (stimulation tactile du trayon) (JADOUL et RUPERT, 2015).

La citerne papillaire débouche directement dans le canal puis le sphincter papillaire du trayon, la porte de sortie du lait (PAVAUX et BARONE, 2001).

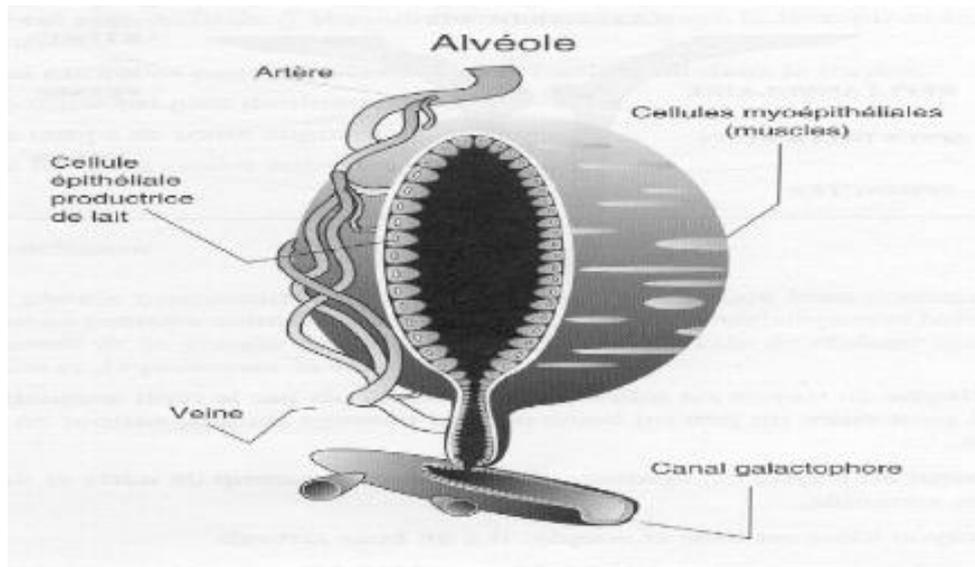


Figure 03 : Conformation de l'alvéole (BOUICHOU, 2009)

Un tissu non sécréteur (stroma) entoure et recouvre le tissu sécréteur de la mamelle. Il est constitué de tissus conjonctifs : un tissu lâche qui entoure les alvéoles et les regroupe en lobules divisés en lobes et qui joue le rôle d'un réservoir d'énergie requise pour la synthèse du lait et un autre dense qui est formé des deux ligaments médian et latéral (CHARTON, 2017).

I.4. Conformation du trayon

Le trayon est une structure cylindrique, creuse, d'une taille de 5 à 7 cm et d'un diamètre de 2 à 4 cm. Sa paroi est élastique, riche en fibres musculaires lisses, assure, par sa souplesse, une facilité de traite (REMY, 2010). Il se situe alors en dessous de la citerne glandulaire et est délimité par un relief annulaire appelé cercle veineux de Fürstenberg. Puis vient la citerne papillaire se terminant par la rosette de Fürstenberg (anneau de tissu lymphocytaire dont le rôle est la reconnaissance des germes), et vers l'extrémité postérieure du trayon se trouve le canal tapissé intérieurement par de la kératine qui capte les bactéries puis le sphincter papillaire (figure 04) (PAVAUX et BARONE, 2001 ; HANZEN, 2008).

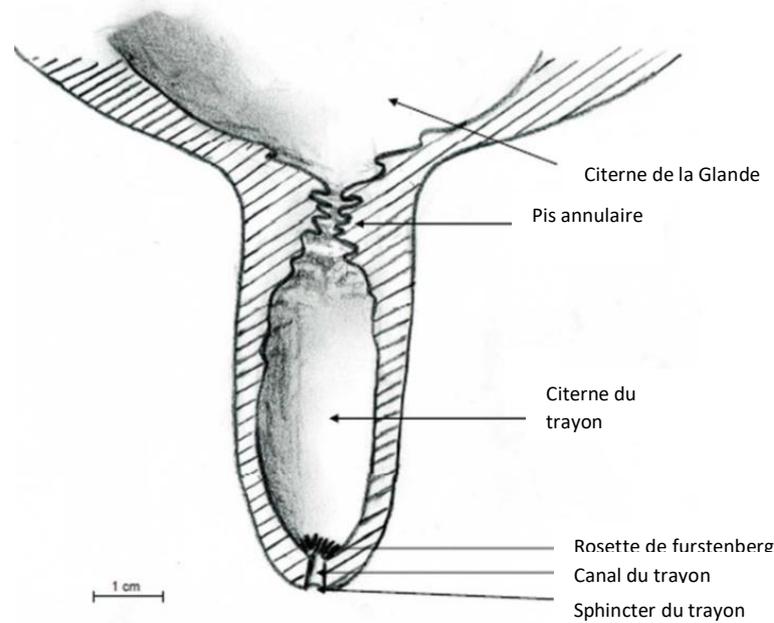


Figure 04 : Anatomie du trayon (BOUCHARD, 2013).

I.5. Lait de vache et ses principaux composants

Le lait de vache est produit par la vache dès la naissance de son veau pour le nourrir. Il est très utilisé en alimentation humaine transformé ou non. Il contient les trois types de nutriments principaux (glucides, lipides, protéines), des sels minéraux tels le calcium et le phosphore, et des vitamines (GRENON *et al*, 2004).

Le lait de vache est périssable. Certaines bactéries peuvent rapidement le coloniser et modifier les caractéristiques chimiques, tout en dégradant ses composants. La résultante la plus classique est l'acidification du milieu (dégradation du lactose en acide lactique), conduisant à une coagulation des protéines : le lait « tourne » (CAMUS, 2011).

Il peut être vecteur de germes de maladies portées par la vache et transmissibles à l'homme (les zoonoses) ; les plus connues étant la brucellose, la tuberculose bovine, et la listériose (KUNDA *et al*, 2007).

Le lait contient des cellules somatiques (globules blancs essentiellement) ; de 100 000 à 200 000 par ml pour une vache saine. Ces cellules ne sont pas toxiques, mais leur comptage est un reflet de la santé de la glande mammaire et de la qualité bactériologique du lait. Un niveau élevé est le signe d'une inflammation ou d'une infection bactériologique d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle ce qui engendre une mammite (CLEGG *et al*, 2013).

Le lait contient plus de 88% d'eau. Les macronutriments du lait entier se répartissent comme suit : 43% de glucides, le principal glucide est le lactose ; qui est un disaccharide composé d'une molécule de galactose, et d'une autre de glucose. La concentration en lactose dans le lait de vache est très stable au cours de la lactation et est comprise entre 48 et 50 g/L. La teneur en lipides est de 29%, qui sont constitués essentiellement d'acides gras saturés et de cholestérol. En revanche, la teneur en protéines est de 28%, leur concentration dans le lait est mesurée par le Taux Protéique (TP), et est comprise entre 34 à 35 g/L (COURTET-LEYMARIOS, 2010).

Parmi les protéines d'origine lactique, les caséines représentent 80% des protéines du lait de vache, les 20% restants étant des protéines dites « solubles » comme par exemple les immunoglobulines. Dans le lait les caséines forment des micelles stabilisées entre elles par des ponts de calcium. Ces protéines possèdent un certains nombre de caractères communs, tels que la présence de phosphore sous forme de groupements phosphoséryls et leurs richesses en certains acides aminés (leucine, proline, acide glutamique). Néanmoins, elles se distinguent les unes des autres par le nombre de résidus phosphoséryls, la présence ou non de cystéines et de dérivés glucidiques, et la teneur en certains acides aminés (thréonine, tyrosine, proline par exemple) (CROGUENNEC et *al*, 2008).

En revanche, les minéraux ne représentent que 7 g/L de lait de vache produit, mais assurent cependant des propriétés nutritionnelles majeures. Le lait est une source de calcium (1.25g/L): 100 g (environ 100 ml), couvrent plus de 10% de l'apport nutritionnel conseillé par jour pour un adulte en calcium et en phosphore. Il contient d'autres minéraux à savoir le potassium (1,6 g/L), le phosphore (1 g/L), le chlore (1,1 g/L), le sodium (0,425 g/L) et le magnésium (0,4 g/L) (GAUCHERON, 2004).

Il contient aussi des vitamines B12, B2, B3, B5, A, C et D. Une portion de 100g (environ 100 ml) apporte près de 12 % des apports nutritionnels conseillés en vitamine B12, environ 10% des apports conseillés en vitamines B2 et B3; près de 5% des apports journaliers conseillés en vitamines A, B5 et D. Il est parfois enrichi en vitamines, après avoir été écrémé (GAUCHERON, 2004).

I.5.1. Propriétés physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont le point de congélation, l'acidité, et la densité (VIGNOLA, 2002).

Un lait de vache frais a un pH compris entre 6,6 et 6,8. Le colostrum est plus acide que le lait normal, tandis que le lait de fin de lactation et celui de vaches malades (lait mamiteux) ont généralement un pH plus élevé, se rapprochant du pH du sang (VIGNOLA, 2002).

Son point de congélation est situé entre $-0,54\text{ °C}$ et $-0,55\text{ °C}$. Ce critère est l'une des caractéristiques physiques les plus constantes. Toute variation supérieure à $-0,54\text{ °C}$ est un indice de mouillage. Il permet la détection du mouillage du lait à partir de 3%. L'abaissement du point de congélation peut aussi être causé par la subdivision du lactose en plusieurs molécules plus petites. Il peut aussi servir à évaluer le degré d'hydratation des protéines (VIGNOLA, 2002).

La densité normale du lait de vache se situe autour de 1030 à 1035. Elle est la résultante de la densité de chacun de ces constituants. Pour le lait entier, il convient de mesurer la densité à 30 °C pour que les matières grasses soient à l'état liquide, car autrement, à l'état solide, les matières grasses ont une densité supérieure et variable. S'il y a présence d'air dans le lait, la densité sera plus faible (VIGNOLA, 2002).

La densité des constituants laitiers à 30 °C s'établit comme suit :

- Matières grasses : 0,913 ;
- Extrait sec dégraissé : 1,592 ;
- Lactose : 1,63 ;
- Protéines : 1,35.

Le point d'ébullition du lait est de $100,5\text{ °C}$. Comme pour le point de congélation, il est en fonction du nombre de particules en solution et par conséquent, il augmente avec la concentration du lait et diminue avec la pression. Ce phénomène est appliqué dans les procédés de concentration du lait. En revanche, l'acidité titrable d'un lait frais est de 16 à 18 °Dornic (°D) (JEANTET et *al*, 2017).

I.5.2. Composition microbiologique du lait

Le lait contient une flore originelle : microbienne ou fongique d'intérêt technologique, qui contribuent positivement à sa transformation. Elle est de l'ordre de moins de 10^3 germes par ml (bactéries lactiques, germes saprophytes) s'il est prélevé dans de bonnes conditions et issu d'un animal sain (GUIRAUD, 1998). Même à la sortie de la mamelle, le nombre de germes reste faible, malgré la température du lait, sa richesse en eau et sa teneur en glucides

car le lait présente un pouvoir bactériostatique d'où une multiplication quasi-inexistante pendant quelques heures suivant la traite (FREDOT, 2012). En revanche, il peut aussi être contaminé par des flores d'altération, qui n'ont pas de danger sanitaire pour le consommateur, ou par des flores pathogènes susceptibles d'engendrer des maladies chez l'homme (MICHEL et al, 2001).

La présence de germes pathogènes est due à un état pathologique avec ou sans infection du pis (mammites ou maladie). Il peut être le siège d'une contamination microbienne surtout à la ferme dont les sources sont multiples (fèces, sol, air, eau, animal, litière et aliments, manipulateurs, équipements de traite et de stockage du lait, insectes ...etc.) (BORREANI et al, 2019).

I.5.2.1. Bactéries lactiques :

Sont celles qui transforment le lactose en glucose et galactose puis en acide lactique (température favorable 30 à 40°C). Lorsque la teneur en acide lactique atteint 6 à 7 g/l, la caséine se coagule et le lait « tourne » à température ambiante. La mesure de l'acidité permet de contrôler la qualité du lait. On l'exprime en degré Dornic, c'est-à-dire en décigrammes d'acide lactique par litre. Un lait frais titre 16-17°D. Il se coagule à l'ébullition lorsqu'il atteint 22-23°D (VEISSEYRE et LENOIR, 1992). Parmi les bactéries lactiques les plus importantes, on trouve : *Lactococcus*, les Lactobacilles, les Streptocoques thermophiles et *Leuconostoc* (CALLON et al, 2011).

I.5.2.2. Bactéries saprophytes

Ces germes considérés comme indésirables, peuvent être nombreux si la récolte du lait n'a pas été réalisée sous de bonnes conditions d'hygiène, tels que : les bactéries coliformes. En raison de leur origine fécale, ces dernières sont considérées comme un indice de pollution, comme : *Bacillus* et *Pseudomonas* qui causent des troubles digestifs comme les vomissements, des douleurs abdominales et parfois aussi, elles causent des diarrhées (VIGNOLA, 2002).

I.5.2.3. Bactéries pathogènes

En plus des germes saprophytes et lactiques, on constate aussi parfois la présence de bactéries pathogènes et de leurs toxines, telles que *Escherichia Coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, ...etc

Ces microorganismes pathogènes nuisent à la santé publique. De ce fait, il est obligatoire de les détruire par des traitements thermiques avant la transformation du lait cru.

Autres composés indésirables qui posent problème pour les industries laitières, sont : les résidus d'antibiotiques retrouvés dans le lait, ainsi que des substances chimiques comme : les dioxines, le plomb, les pesticides,...etc) (BERTHELOT, 2018).

Chapitre II : Les mammites

II.1. Définition de la mammite

C'est une inflammation du parenchyme de la glande mammaire due à une infection par un agent pathogène : parasite, virus, levure ou bactérie comme dans la plupart des cas (infection intra mammaire), une blessure ou une allergie, considérée comme la maladie la plus répandue chez les mammifères (KIBEBEW, 2017). L'infection est généralement ascendante, les agents bactériens pénètrent à travers l'orifice papillaire du trayon. Les symptômes varient selon l'agent pathogène et l'hôte (STAUB *et al*, 2013).

II.2. Types de mammites

Les mammites sont généralement classées selon leur forme clinique. Chaque forme clinique est caractérisée par ses symptômes et des caractéristiques du lait de point de vue physico-chimique.

II.2.1. Mammites latentes

C'est une infection discrète, l'animal ne présente aucun signe clinique et son lait n'est pas modifié. Le système de défense de la vache ne se déclenche pas (aucune réaction immunitaire) (REMY, 2010). C'est une mammite redoutable du fait que la totalité du troupeau peut être contaminée sans que l'éleveur s'en aperçoive (REMY, 2010).

II.2.2. Mammites cliniques

Les mammites cliniques sont définies comme une glande mammaire ayant des sécrétions modifiées (plus aqueuses, présence de grumeaux, etc.) plus ou moins des signes locaux de l'inflammation (enflure, rougeur, chaleur et douleur). Elles seront considérées aiguës ou suraiguës dans le cas de changements soudains, et chroniques lorsque la situation est continue ou récurrente (ERSKINE, 2004).

Elles sont caractérisées par des signes d'inflammation locaux (gonflement, chaleur, rougeur et douleur), ainsi que des signes généraux (fièvre, perte d'appétit,...etc). On peut également observer des caillots ou des colorations dans le lait qui sont souvent du sang ou ayant une consistance très légère (ressemblant à de l'eau) (SEARS *et al*, 1993).

Les mammites cliniques sont subdivisées en :

II.2.2.1. Mammites suraiguës

Elles sont rares mais généralement mortelles. Elles sont caractérisées par une violente inflammation et d'apparition brutale d'une traite à une autre due à des germes toxigènes (*S.aureus* doré) provoquant ainsi : une fièvre, abattement, état de choc pouvant conduire à la mort de l'animal après 24 à 72h (INSTITUT DE L'ELEVAGE, 2008 ; REMY, 2010 ; WATREMEZ, 2014).

Parmi, les types les plus répandus de mammites suraiguës :

II.2.2.1.1.Mammites gangréneuses

Elles peuvent être très aiguës. Elles touchent à un seul ou plusieurs trayons (voire des quartiers complets). Elles présentent des symptômes locaux : rougeur, gonflement et chaleur qui se transforme en froid quelques heures plus tard. Les signes généraux sont : anorexie, déshydratation, dépression, fièvre et signes de toxémie. Les sécrétions sont aqueuses et ensanglantées. Le pis ou la mamelle devient nécrosé(e). Ce sont des infections rares mais peuvent être mortelles (BLOWEY et *al*, PHIRI et *al*, 2010 ; BOGNI et *al*, 2011).

II.2.2.2. Mammites aiguës

Elles surviennent subitement et sont généralement provoquées par l'association des entérobactéries (*Escherichia coli* ou *Klebsiella*), streptocoques (*Streptococcus uberis* et *Streptococcus dysgalactiae*) et staphylocoques (*Staphylococcus aureus*). Elles sont caractérisées par une perte d'appétit, fièvre et dépression. Les signes locaux sont remarquables, le pis est enflé, dur et douloureux. Le lait peut être très clair et léger et présenter des grumeaux (BOGNI et *al*, 2011 ; MANAS et *al*, 2019).

II.2.3. Mammites chroniques

Généralement provoquées par les staphylocoques coagulase négative (*aureus* et *uberis*). C'est une inflammation persistante qui peut durer plusieurs mois. Si l'infection dure plus de deux mois elle est identifiée comme chronique (KIBEBEW, 2017). Ce genre de mammites endommage la mamelle de manière irréversible suite aux infections répétées. Les vaches sont souvent abattues (BLOWEY, 2010).

II.2.4. Mammites subcliniques

Les mammites subcliniques représentent 95% des cas d'infections mammaires. Elles peuvent être une évolution d'une mammite latente ou une mammite clinique dont le traitement n'a pas éliminé la totalité des germes responsables de l'infection (REMY, 2010). Elles sont détectées par une analyse biochimique ou cytologique du lait, du fait que la vache lutte contre l'infection en produisant des leucocytes dans la mamelle, alors la détection se fait par comptage cellulaire individuel de chaque vache. Un test CMT (Californian Mastitis Test) est souvent utilisé pour le dépistage des vaches atteintes (INSTITUT DE L'ELEVAGE, 2008 ; REMY, 2010).

II.3. Germes responsables de mammites

La mammite est causée par des agents physiques, chimiques et biologiques. Généralement, les infections bactériennes sont les principales causes de mammite chez la vache. Parmi les nombreux micro-organismes causant cette infection mammaire, les plus courants sont les Staphylocoques (*Staphylococcus aureus*), les Streptocoques (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*) et quelques genres d'entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella*), ainsi certains agents moins courants tels que : *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Mycoplasma*, en plus des levures et moisissures. Les virus sont rarement impliqués dans l'apparition de mammites chez les bovins (MARKEY et al, 2011).

II.3.1. Germes majeurs responsables de mammites

II.3.1.1. Staphylocoque doré ou *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus communément appelé le staphylocoque doré est une bactérie Gram positive, retrouvée sous forme de cocci immobiles d'environ 1µm de diamètre et qui se présente en diplocoques (des cocci associés par deux) ou sous forme d'amas formant ainsi la forme de grappes de raisin (figure 05). Cette bactérie est pourvue de catalase (enzyme qui hydrolyse le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en H₂O et O₂), elle est mésophile et aéro-anaérobie facultatif. De plus, elle possède aussi, une coagulase, c'est à dire une enzyme provoquant une coagulation du plasma, cette dernière est considérée parmi ses facteurs de virulence, ce qui la distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques. Elle est commensale et opportuniste, impliquée dans de différentes maladies chez l'homme et l'animal. Elle se

retrouve pour la plus part des cas sur la peau, dans les muqueuses et les fosses nasales (REMY, 2010).

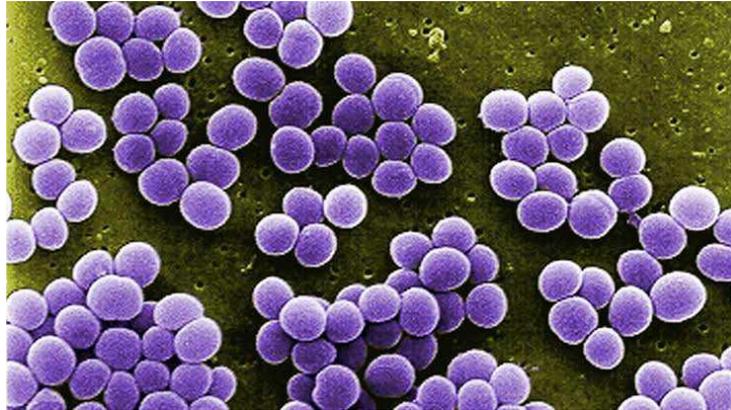


Figure 05 : Photo du *Staphylococcus aureus* prise par microscopie électronique (HOPKINS, 2021).

II.3.1.2. Streptocoques

Les *Streptococcus* sont des bactéries Gram positives, d'environ 1µm de diamètre, se présentent généralement en diplocoques (deux coques) ou en chaînette de longueur variable (figure 06). Elles sont immobiles, asporulées et rarement capsulées. Elles se développent aussi bien en absence d'oxygène qu'avec (aéro-anaérobies facultatifs) (REMY, 2010).

Ce genre Streptocoques regroupe un très grand nombre de bactéries ubiquitaires et qui comprend de nombreuses espèces pathogènes, des espèces commensales et saprophytes. Parmi elles : *Streptococcus agalactiae* qui est un hôte obligatoire de la glande mammaire des bovins, où il provoque une mammite contagieuse (KEEFE, 1997).

D'autres espèces de *Streptococcus* associées à la mammite semblent d'être spécifiques à une espèce animale. Chez les bovins, les plus répandus sont *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, toutes les deux sont considérées comme agents pathogènes environnementaux causant une mammite par transmission directe ou indirecte de l'agent infectieux (BRADLEY, 2002).



Figure 06 : Photo des Streptocoques prise par microscopie électronique (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2021).

II.3.1.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie Gram négative, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle est sous forme de bacille mobile grâce à une ciliature péritriche (figure 07), vivant isolée ou groupée par paire. Elle mesure environ 3 μ m pour un diamètre de 0.5 μ m (REMY, 2010).

Ce micro-organisme est un hôte commensal du microbiote intestinal des animaux et de l'humain (TENAILLON et *al*, 2010). Il est doté d'une capsule polysaccharidique, cette dernière rend la phagocytose difficile et inhibe l'action des défenses immunitaires de son hôte. De plus, cette bactérie est pourvue d'adhésines, appelées fimbriae, qui lui permet d'adhérer aux cellules épithéliales et de résister dans la lumière des canaux lactifères (RATTEZ, 2017).

La multiplication de cette bactérie est extrêmement rapide bien qu'elle soit en partie éliminée pendant la traite ; ainsi en 8h une bactérie peut produire 16 millions de nouvelles cellules bactériennes. C'est une bactérie peu contagieuse, parfois est absente dans des analyses bactériologiques, le fait qu'elle est excrétée en petite quantité et par intermittence (REMY, 2010).



Figure 07 : Photo microscopique d'*Escherichia coli* (BENSAKHRIA, 2018)

II.3.2 Germes mineurs responsables de mammites

Chez les vaches laitières, la plupart de bactéries Gram négative qui causent la mammite sont des *E.coli*, mais il y a d'autres genres bactériens qui favorisent l'apparition de cette infection, tels que les *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Shigella*, *Providencia*, et très rarement *Salmonella* (DELGADO et al, 2009).

Ces micro-organismes considérés comme agents causaux environnementaux, provoquent généralement la mammite clinique suite à la libération d'endotoxines dans certains cas lors de la réponse immunitaire de l'hôte (HOGAN et SMITH, 2003).

Cependant, les levures sont des causes très rares de mammites bovines. Parmi ces levures *Candida albicans* retrouvée généralement dans l'environnement ou dans les eaux, et favorise l'apparition d'une candidose mammaire, ce qui implique par la suite une mammite chez le bovin (LOCATELLI et al, 2011).

Les algues telles que (*Protothecazopfii*) peuvent provoquer des mammites subcliniques ou cliniques aiguë, avec une forte augmentation cellulaire et une importance baisse de la production laitière (REMY, 2010).

Mêmes s'ils sont considérés comme des agents causaux rares de mammites, les virus parfois y parviennent à induire une infection mammaire chez la vache laitière, comme l'Herpès virus bovin 1, et le virus de la fièvre aphteuse, et le parainflunza de type 3 (WELLENBERG et al, 2002).

II.4. Facteurs influençant les mammites

- A. La race :** les vaches destinées à la consommation sont généralement rarement touchées par les mammites. Leur lait est directement consommé par le veau donc aucune traite mécanique est utilisée ce qui réduit significativement la détérioration du trayon, qui est habituellement causée par les machines à traire (KIBEBEW, 2017).
- B. La structure de la mamelle :** les mamelles avec des quartiers inégaux en termes de taille sont plus susceptibles d'être infectées, également pour les trayons longs. L'inactivité des quartiers peut être aussi un risque d'une mammite subclinique (AWALE et *al*, 2012).
- C. L'âge de la vache et le stade de lactation :** l'âge de la vache est un facteur important, car chez les vaches âgées le sphincter est plus large en raison des traites fréquentes pendant des années. L'âge peut aussi augmenter la perméabilité de l'épithélium de la mamelle causée par des inflammations précédentes même après un traitement efficace (KRÓL et *al*, 2013).

Les génisses ayant une inflammation avant la parturition sont beaucoup plus exposées au risque d'avoir une mammite clinique. En effet, les mammites cliniques sont plus fréquentes après parturition, lactation précoce et durant les premières semaines de la période de tarissement (MALINOWSKI et SMULSKI, 2007) et ça résulte de l'augmentation du stress oxydant et la réduction des mécanismes de défenses antioxydants au début de la lactation (KIBEBEW, 2017).

- D. Les mécanismes de traite et l'hygiène :** l'hygiène lors de la traite est primordiale. Dans les élevages où la traite est faite manuellement par des éleveurs qui ont bien lavé leurs mains, le taux d'infections mammaires est bas contrairement aux élevages où les éleveurs ne lavent pas leurs mains (SHITTU et *al*, 2012).
- E. La période de tarissement :** la période de tarissement est une période où les mammites sont fréquentes. Durant cette période le tissu de la glande mammaire se régénère. Pour 305 jours de lactation, la durée optimale de tarissement est de 40-60 jours. La diminution de la période de tarissement minimise la résistance de la mamelle aux inflammations par conséquent l'augmentation du risque des mammites (KIBEBEW, 2017).
- F. L'hygiène de l'environnement :** l'hygiène de l'environnement où se trouvent les vaches est un facteur affectant la santé du cheptel (MYLLYS et *al*, 1995). Plus il y a

un manque de propreté, plus les vaches sont exposées au risque de mammites (DELELESSE, 2010).

Le choix de litière, l'élimination de la boue et l'habitat de l'élevage sont en une relation étroite avec les mammites de l'environnement (KIBEBEW, 2017).

II.5. Méthodes de dépistage des mammites

Le diagnostic d'une mammite peut se faire grâce aux symptômes cliniques. En conséquence, il est souvent diagnostiqué directement par une évaluation visuelle de l'inflammation de la mamelle ou par changements dans les propriétés organoleptiques du lait (PYORALA, 2003).

En outre, il existe plusieurs méthodes permettant le dépistage de mammite chez le bovin laitier, comme le test de CMT (California Mastitis Test) (figure08). C'est un simple test de dépistage rapide, basé sur l'estimation du nombre de cellules somatiques dans l'échantillon de lait. La population de cellules somatiques se compose de 75% de leucocytes et de 25% de cellules épithéliales. L'augmentation de ces leucocytes indique la présence d'une mammite. Le réactif tensio-actif nommé le Teepol, est mélangé avec les échantillons de lait déposés sur un carapelle qui comporte quatre puits correspondant aux quatre trayons de la vache. L'agent tensio-actif provoque la lyse des cellules somatiques et la libération d'ADN formant ainsi des grumeaux (JACK et *al*, 2021).



Figure 08 : Photo du Test CMT (CHAUMARD, 2020)

Par ailleurs, il est possible de dépister une mammite par le biais du comptage individuel des cellules somatiques (CCSI) dans le lait. Il évalue à l'occasion de son contrôle la qualité du lait (taux butyreux, taux protéique). Une CCSI est réalisée par le mélange de lait des quatre quartiers, le taux cellulaire du quartier infecté est donc dilué par les quartiers sains (BOSQUET et *al*, 2004).

Les CCSI doivent être réalisées tous les mois, car leur interprétation se fait par comparaison aux mois précédents afin de noter les augmentations importantes indiquant une infection et de positionner les résultats de la vache par rapport aux valeurs seuils (BOSQUET et *al*, 2004).

En conclusion, si le résultat d'une CCSI est élevé, cela permet de suspecter une infection. Ces résultats permettent aussi d'identifier entre les vaches qui sont infectées constamment par des agents pathogènes majeurs, et les autres vaches qui sont sujettes à une infection par des agents pathogènes mineurs ou soit elles ne sont pas infectées tout simplement (BOSQUET et *al*, 2005).

Chapitre III : **Impacts des mammites**

III.1. Impacts des mammites sur la qualité du lait (propriétés physico-chimiques et microbiologiques du lait)

L'inflammation de la glande mammaire durant la mammite provoque une gamme de modification physique, microbiologique, et chimique du lait. L'indicateur le plus largement utilisé de la santé du pis est le comptage des cellules somatiques, une mesure du nombre de globules blancs, appelés leucocytes dans le lait (AULDIST, 2011).

Le nombre de cellules somatiques, est inclus comme un paramètre dans la définition de la qualité du lait. Tant que le nombre de cellules est moins de 100.000 cellules par mL du lait sécrété dans un quartier sain, la composition du lait peut être caractérisée comme physiologique (se trouve dans la fourchette normale) (HAMANN et *al*, 2010). La qualité du lait peut être évaluée en mesurant les paramètres qui indiquent à la fois son aptitude à la consommation ou à la transformation en produits laitiers et de l'état de santé de la vache ou d'un troupeau produisant du lait (KELLY et *al*, 2011).

Les principaux critères de la qualité hygiénique du lait cru sont le nombre total de bactéries présentes dans le lait, l'absence de bactéries pathogènes, et de résidus d'antibiotiques (HAMANN, 2002). L'augmentation des cellules somatiques du lait est associée à l'altération de la qualité des protéines, la modification de la composition d'acide gras, l'altération de la teneur en lactose et en minéraux, l'augmentation de l'activité enzymatique, et un pH plus élevé du lait cru (COULON et *al*, 2002 ; OGOLA et *al*, 2007).

III.2. Impacts des mammites sur la santé du consommateur

Bien que le lait soit un élément important dans une alimentation saine, si consommé cru, il peut présenter un danger pour la santé publique en raison de la contamination possible par des bactéries pathogènes. Ces bactéries peuvent provenir des animaux cliniquement sains avec une mammite subclinique, le lait produit sans aucun changement visible, est accidentellement mélangé dans le lait en vrac; il entre dans la chaîne alimentaire et peut être dangereux pour les humains (ANGULO et *al*, 2009).

Le lait et autres produits laitiers sont souvent infectés par des *Staphylococcus aureus*, et la glande mammaire bovine peut être un important réservoir de ces souches (HAMEED et *al*, 2007). Le danger pour la santé publique est particulièrement lié à la capacité de 50 % de ces

souches de produire des entérotoxines thermostables associées à une intoxication alimentaire (BENDAHOU et *al*, 2008).

Par ailleurs, le lait peut être impliqué dans plusieurs problèmes sanitaires, notamment la contamination chimique, due aux résidus de médicaments vétérinaires. Ces résidus sont utilisés dans les systèmes d'élevage en prophylaxie, comme additifs alimentaires ou comme facteurs de croissance des animaux (PASCAL, 2005) et peuvent détériorer la qualité du lait et provoquer de sérieuses conséquences (TOLLEFSON et *al*, 2000). La contamination des denrées alimentaires par les résidus d'antibiotiques conduit à plusieurs désagréments, aboutissant au développement de populations bactériennes résistantes aux antibiotiques (RAMIREZ et *al*, 2003), à l'apparition et au développement de certains problèmes allergiques (AFSSA, 2014) et au déséquilibre de la flore intestinale (CERNIGLIA et KOTARSKI., 2005). Dans les industries laitières, les conséquences peuvent être désastreuses. Les résidus entravent toute maturation de ferments lactiques, au cours de la transformation, engendrant ainsi des pertes économiques énormes (NOVES et *al*, 2015).

La découverte des antibiotiques a été un miracle du fait de leur importance dans le domaine médical. Or, cette découverte a été suivie par l'apparition de l'antibiorésistance qui évolue plus rapidement que ces molécules thérapeutiques particulièrement chez les bactéries Gram négatives dont les entérobactéries (LODE, 2010).

Selon les bonnes pratiques, l'antibiothérapie ne doit être qu'une solution au cas par cas de contrôle d'un épisode infectieux, et en aucun cas un palliatif systématique à des défauts techniques. Cela exige une stratégie d'utilisation adaptée aux besoins sanitaires de l'élevage après un passage en revue de l'ensemble des options de contrôle des infections (vaccination, biosécurité, pratiques zootechniques, etc.) assurant la meilleure prévention (SANDERS et *al*, 2011).

III.2.1. Présence de résidus d'antibiotiques dans le lait

Les antibiotiques restent parmi les molécules les plus utilisées en élevage bovin pour lutter contre des maladies dont les principales sont les affections respiratoires et podales ainsi que les mammites (NICKELL et WHITE, REYBROECK., 2010). Leur usage, en traitement curatif, préventif ou en complémentation dans l'alimentation animale, conduit à la présence de leurs résidus dans les denrées alimentaires issues des animaux, par exemple dans le lait lors d'un cas de mammité traitée (BOULTIF, 2015).

Les résidus d'antibiotiques sont définis comme étant tous principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans le lait ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré (KEBIR, 2016). Ils sont éliminés essentiellement dans les matières fécales et l'urine, ils peuvent se retrouver en très faible quantité dans le lait des vaches après le traitement (ANING, 2007) car la stérilisation ou la pasteurisation ne peuvent pas forcément les détruire (JUNZA et al, 2014) ce qui cause une vraie menace sur la santé du consommateur. La présence des résidus d'antibiotiques peut être de différentes sources : un non respect des délais d'attente, la traite d'une vache tarie, le non-respect de la période claustrale (pas de livraison de lait les 7 jours suivant le vêlage), une mauvaise utilisation du traitement (mauvais dosage par exemple) (CUMINET, 2014).

III.2.2. Apparition de bactéries multi-résistantes

Dans le domaine microbiologique, il y a deux types de résistance: naturelle et acquise. La première des deux s'effectue de façon naturelle, sans devoir impliquer l'acquisition de gènes de résistance ou de mutation. Par exemple, il y a le mycoplasme qui résiste à la pénicilline puisque cette bactérie n'a pas de paroi, site d'action de cet antibiotique. En revanche, l'autre type de résistance consiste en une mutation cellulaire ou bien, l'acquisition de gènes exogènes. Le premier type de résistance est lié à une mutation effectuée au niveau du chromosome bactérien, ce qui aura pour conséquence de muter les cibles auxquelles les molécules de l'antibiotique se lient normalement. Si le changement de structure est assez important, l'antibiotique ne pourra plus s'y lier, rendant la bactérie résistante (PRESCOTT et al, 2000).

Les bactéries pathogènes de la glande mammaire, exposées aux antibiotiques de manière fréquente et répétée, ont l'occasion de développer une antibiorésistance. Suite à des infusions intra mammaires, que cela soit en période de tarissement ou de lactation, les bactéries pathogènes sont exposées à des antibiotiques lors d'un épisode de mammite. Cette exposition permettra la sélection des micro-organismes les plus aptes à résister à des antibiotiques spécifiques (COURVALIN, 2005). L'inconvénient lorsque des agents pathogènes deviennent résistants, c'est qu'ils peuvent souvent transférer leurs gènes aux autres bactéries. Devant l'apparition de l'antibiorésistance, l'homme s'est mis à créer d'autres antibiotiques pour enrayer cette menace. Cependant, la population bactérienne a su s'adapter à nouveau pour éviter de se faire anéantir par les antibiotiques. Il suffit de penser aux *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) (KOWALSKI et al, 2005).

La présence de résidus d'antibiotiques conduit à l'émergence d'une multitude de désagréments, aboutissant à titre d'exemple au déséquilibre de la flore intestinale, à des effets toxiques ou allergènes et la sélection de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques (MEKADEMI, 2008 ; SANDERS et *al*, 2011).

Parmi les mécanismes que la bactérie développe pour fuir l'action des antibiotiques (figure 09) :

- Inactivation enzymatique : retrouvé souvent chez *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) (SAGEMAN, 2015) où la bactérie synthétise les β -lactamases qui dégradent le noyau des β -lactames et rendent l'antibiotique inactif (HOLCOMB et *al*, 2008).
- Imperméabilité de la membrane plasmique : certaines bactéries ont la capacité de réduire la perméabilité de leur membrane externe (souvent chez les souches à Gram négatif dotées d'une membrane externe) grâce à une mutation qui engendre l'altération des pores de la membrane généralement par la modification de la charge électrique ou de la structure, ce qui empêche l'antibiotique de pénétrer à l'intérieur de la cellule; l'antibiotique est actif mais n'atteint pas sa cible. Certaines bactéries à Gram négatif sont naturellement résistantes vis-à-vis des grosses molécules comme la vancomycine grâce à leurs pores étroits qui ne laissent pas les grosses molécules passer (GALDIERO et *al*, 2012).
- Modification de la cible : certaines bactéries ont la capacité de modifier la cible de l'antibiotique. Celui-ci ne reconnaît plus sa cible et il devient inactif. Par exemple, la tétracycline qui bloque l'ARNt chez la bactérie, cette dernière modifie son ARNt de manière à ne plus être reconnu par la tétracycline (DENYER et *al*, 2011).
- Pompes à efflux : certaines bactéries utilisent des pompes à efflux qui sont des pompes biologiques qui vont éjecter l'antibiotique de la cellule avant qu'il atteigne sa cible. Ce mécanisme est utilisé plus fréquemment avec les macrolides, les tétracyclines et les fluoroquinolones qui, en général, inhibent la synthèse d'ADN et de protéines à l'intérieur de la cellule (WILLEY et *al*, 2013).

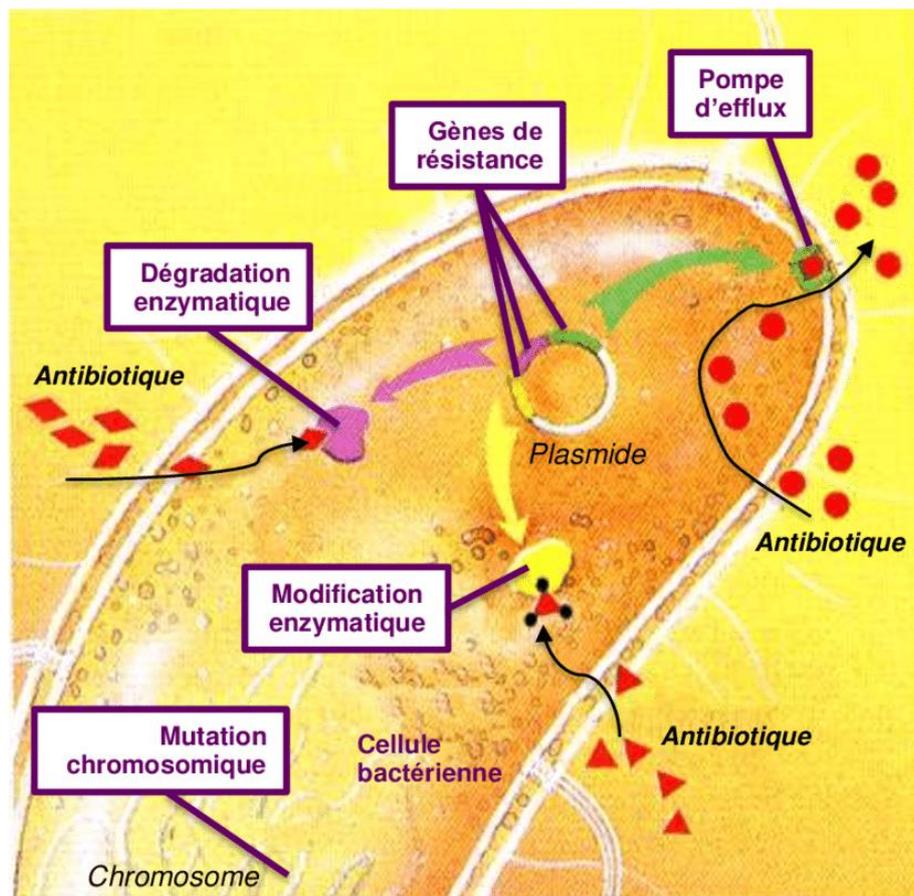


Figure 09 : Mécanismes de résistance des bactéries vis-à-vis des antibiotiques (DOUBLET et al, 2012).

Pour éradiquer ce problème, des mesures doivent être prises telles que l'utilisation de l'antibiotique qu'après isolement, identification et réalisation d'un antibiogramme pour la souche, l'interdiction d'utilisation des antibiotiques comme promoteurs de croissance, utilisation des antibiotiques à spectre étroit avant les antibiotiques à spectre large, le respect de la dose, la durée et le délai d'attente du traitement (DUGASSA et SHUKURIE, 2017).

III.3. Impacts économiques des mammites sur les éleveurs et les industries laitières

La mammite clinique a été identifiée comme la cause la plus fréquente de morbidité chez les vaches laitières adultes aux États-Unis. Cette infection représente une menace pour les éleveurs car elles peuvent induire un grand problème économique (SHARMA *et al*, 2011).

En Royaume Uni par exemple, l'ensemble des pertes liées aux mammites se situent entre 106 et 373 millions de livres par an (AXFORD *et al*, 2000), et aux États Unis d'Amérique sont de 2 milliards de dollars (SORDILLO *et al*, 2002).

La mammite clinique entraîne de nombreux effets négatifs pour la vache, notamment la douleur, la diminution de la production, l'abattage et la mort. Le producteur laitier supporte le coût de ces résultats négatifs incluant la réduction de la qualité et la quantité de lait, ainsi que l'augmentant des coûts de production (ROLLIN et *al*, 2015).

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

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

Selon HALASA et *al*, (2007) et VIGUIER et *al*, (2009), les facteurs économiques et les coûts associés peuvent être répartis comme suit :

Les coûts directs, ils correspondent :

- Aux dépenses vétérinaires ;
- Au lait non produit du fait de réformes prématurées ;
- Au lait non commercialisé, car écarté du tank suite à une antibiothérapie ;
- A la baisse de production laitière induite par les mammites.

Lorsque la CCSI est de 400 000 cellules/ml, il existe une baisse de production de 0,5 Kg de lait/vache/jour par rapport au seuil de référence de 200 000 cellules/ml, et une baisse de production atteignant 1 Kg/vache/jour en cas de CCSI supérieure ou égale à 800 000 cellules/ml (INSTITUT DE L'ELEVAGE, 2008).

Les coûts indirects, sont liés aux :

- Pénalités imposées par les laiteries, liées aux taux cellulaires élevés ;
- Le temps perdu par l'éleveur pour soigner ses vaches soit environ 4h par mammite (INSTITUT DE L'ELEVAGE, 2008).

Les mammites restent la maladie la plus fréquente, la plus pénalisante et la plus coûteuse des élevages laitiers. Certains considèrent que leur coût représente, en France, un milliard d'euros par an dont soixante-dix millions pour les mammites cliniques (REMY, 2010).

Le coût de mammite représente deux fois le coût des troubles de la reproduction ou des maladies métaboliques, et six fois ceux dus aux pathologies locomotrices. Certains coûts sont plus faciles à appréhender que d'autres. Les coûts directs d'une mammite clinique (perte de lait, coût du traitement, baisse de production, réformes anticipées) peuvent être estimés entre 75 et 150 euros pour les mammites les plus graves. L'évaluation économique des coûts indirects est plus difficile à estimer, mais ces derniers restent significatifs : pénalités induites, surcroît de travail. Les réformes précoces ont un coût qui a été répercuté sur le prix du litre de lait. Pour mener une vache à son premier vêlage, il faut compter entre 1 500 et 2 000 €. Ce coût d'élevage doit être réparti sur l'ensemble de la production (REMY, 2010).

La répartition des pertes liées aux mammites est:

- 70 % dues à la diminution de production de lait + diminution de la matière grasse.
- 13 % dues aux réformes et à la mortalité.
- 11 % dues à la non-commercialisation du lait (suite au traitement antibiotique).
- 5 % dues aux frais de traitement (RABOISSON *et al*, 2020).

Ajoutant à cela, le lait provenant de vaches souffrant d'une mammite présente d'autres caractéristiques négatives qui peuvent entraîner des problèmes de qualité, tels qu'une mauvaise aptitude à la conservation ou des défauts au niveau du goût (WALTER, 2007). De plus, les effets de mammites sur les industries laitières et fromagères sont observés et qui consistent en modifications de la composition biochimique du lait provoquant ainsi, le ralentissement de la coagulation. De plus, la modification de certaines propriétés organoleptiques, telles que l'odeur et le goût du lait, qui est liée à l'augmentation de la lipolyse, qui est derrière le goût de rance. La présence des antibiotiques dans le lait cru provoque l'inhibition de la fermentation lactique et ainsi l'atteinte à la salubrité du produit final et la baisse de sa qualité hygiénique et organoleptique (OGOLA *et al*, 2007).

Chapitre IV: **Matériel et méthodes**

IV.1. Objectif et plan pratique

IV.1.1 Objectif de l'étude

Notre étude s'est fixée comme objectif d'identifier les bactéries responsables de mammites bovines subcliniques et leurs antibiorésistances, dans deux régions de la wilaya de Tizi-Ouzou (Ouaguenoun et Tizirt). En vue de sa réalisation, nous avons effectué 145 prélèvements, issus de 28 élevages laitiers différents.

IV.1.2 Plan pratique

Afin d'atteindre notre objectif, nous avons suivi la démarche suivante :

- Inspection des fermes dans le but de repérer les cas cliniques et les cas suspects ;
- Réalisation des prélèvements de lait aseptiquement ;
- Isolement et identification des souches responsables de mammites ;
- Réalisation d'antibiogrammes pour les souches identifiées.

IV.2. Matériel et méthodes

IV.2.1. Matériel, réactifs et milieux de culture

IV.2.1.1. Pour la réalisation des prélèvements

Tubes stériles, glacière, gants, portoir à tubes, lingettes stériles, alcool éthylique 70°.

IV.2.1.2. Pour l'analyse microbiologique

Milieux de cultures (Hektoen, Chapman, KF), anse à boucle, bec bunsen, écouvillons stériles, étuve, bain marie, autoclave.

IV.2.1.3. Pour les tests biochimiques

Milieux d'identification (TSI, Citrate de Simmons, Mannitol-Mobilité, Urée-Indole, gélose à ADN), pipettes Pasteur, micropipettes, étuve, embouts, pince.

- **Réactifs** : Plasma de lapin, disques d'oxydase, dioxyde d'hydrogène (H₂O₂), réactif de Kovacs, HCl à 2N.

IV.2.1.4 Pour la réalisation d'antibiogrammes

Gélose Mueller Hinton, bec bunsen, disques d'antibiotiques, pince, écouvillons stériles, vortex, densitomètre, tubes stériles, eau physiologique stérile.

IV.2.2. Méthodes

Dans le but d'éviter toute erreur éventuelle ou des résultats faux, pendant notre étude, nous avons pris des précautions lors des prélèvements et le transport des échantillons au laboratoire, ainsi que lors des analyses microbiologiques que nous avons effectué.

IV.2.2.1. Présentation de la zone d'étude

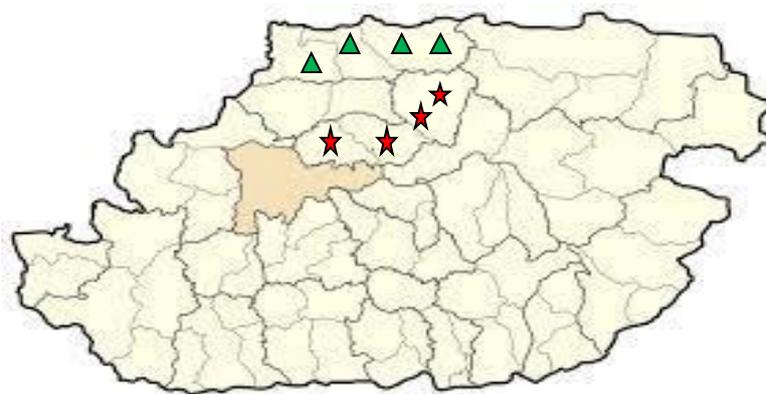
Nous avons réalisé nos prélèvements, à partir de deux daira de la wilaya de Tizi-Ouzou, qui sont Ouaguenoun et Tigzirt.

➤ Daira de Ouaguenoun :

Ouaguenoun est une région rurale dominée par les plaines et qui est située au Nord-Est de Tizi-Ouzou, délimitées par Tigzirt, Azzefoun, Azazga, Tizi-Ouzou, Makouda et Draa Ben Khedda.

➤ Daira de Tigzirt :

Tigzirt est une région côtière de la wilaya de Tizi Ouzou, située à 40 km au nord de Tizi-Ouzou, limitrophe par la wilaya de Boumerdes à l'Ouest et par la daira d'Azzefoun à l'Est, de Makouda et Ouaguenoun au Sud, et de la Mer Méditerranée au Nord.



★ : Prélèvements réalisés à Ouaguenoun

▲ : Prélèvements réalisés à Tigzirt

Figure 10 : Localisation géographique des élevages laitiers investigués dans l'étude.

IV.2.2.2 Population animale de l'étude

Durant notre étude, 144 échantillons de lait sont prélevés de 28 élevages de bovins différents, répartis sur deux régions d'Ouaguenoun où nous avons obtenu 84 échantillons issus de 12 exploitations laitières différentes et de Tigzirt où nous avons prélevé 60 échantillons à partir de 16 élevages laitiers distincts.

Lors de notre enquête, nous avons découvert que les races prédominantes dans ces élevages laitiers visités, sont : la Montbéliarde (52 vaches), Holstein (37 vaches) et la race locale (55 vaches).

IV.3. Échantillonnage

IV.3.1. Prospection des lieux et dépistage des vaches atteintes ou suspectées

Lors de nos visites sur le terrain, nous avons pu collecter certaines informations en relation directe avec les pratiques d'hygiène instaurées dans ces élevages, ainsi que le nombre d'individus dans chaque cheptel, le nombre de vaches en lactation, la race, l'état hygiénique de l'étable, l'état hygiénique de l'animal, le type de traite (mécanique ou manuelle), et l'état de santé des vaches et leurs antécédents sanitaires.

Une fois sur les lieux, nous avons observé l'état des mamelles et des pis des vaches, afin de dépister les cas cliniques. Tandis que les cas suspects (cas subcliniques), des dépistages par le test CMT sont effectués par des vétérinaires praticiens qui nous ont accompagné lors de nos visites.

IV.3.2. Collecte des échantillons du lait

La réalisation des prélèvements est effectuée après le rinçage de la mamelle, l'élimination des premiers jets et la désinfection des pis. Les prélèvements du lait sont récupérés dans des tubes stériles, conservés dans une glacière empilée de pochettes de glaces et acheminés au laboratoire pour des analyses microbiologiques.

IV.4. Isolement et identification des bactéries responsables de mammites

L'isolement de bactéries responsables de mammites a été effectué sur des géloses sélectives pour chaque genre ou espèce bactérienne recherchée. Pour les staphylocoques, nous avons utilisé la gélose hyper-salée de Chapman, la gélose Hektoen pour les entérobactéries et la gélose KF pour les streptocoques. À l'aide d'un écouvillon stérile, une quantité du lait a été

prélevée et ensemencée sur chaque gélose sélective. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures pour les entérobactéries et 48 heures pour les staphylocoques et les streptocoques.

Après incubation, nous avons sélectionné les boîtes ayant des colonies caractéristiques, ensuite nous avons réalisé des repiquages pour mieux isoler et purifier les souches, et cela sur le même milieu (pour les streptocoques) ou sur un milieu sélectif (pour les staphylocoques et les entérobactéries).

IV.4.1. Purification des souches isolées

Les isolats ainsi obtenus sur les milieux d'isolement ont fait l'objet de repiquages successifs et ceci dans le but de purification des souches. La méthode utilisée est l'épuisement (méthode des trois quadrants) sur la même gélose d'isolement (Hektoen ou Mac Conkey pour *Escherichia coli* ou d'autres entérobactéries et la gélose KF pour les streptocoques) ou bien sur une gélose non sélective (BHA pour les staphylocoques). Puis incubation à 37°C pendant 24 heures pour les entérobactéries et 48 heures pour les staphylocoques et streptocoques.

Après cette étape de purification, les souches obtenues sont soumises à une identification biochimique.

IV.4.2. Identification des souches (tests biochimiques)

Identification biochimique de *Staphylococcus aureus*

Pour l'identification du staphylocoque doré, on réalise certains tests biochimiques :

- **Catalase** : 2 à 3 colonies sont mises en contact avec une goutte d'hydroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Un test est positif lorsqu'il y a dégagement de bulles de gaz (effervescence).
- **Coagulase** : un volume 0,5 ml de plasma de lapin est mélangé avec le même volume d'une suspension bactérienne, préalablement préparée. L'incubation est faite à 37°C durant 1 à 4 heures. Le test est positif lorsqu'il y a la formation d'un caillot.
- **ADNase** : ce test est réalisé sur la gélose à ADN. La souche à tester avec la souche de référence *S.aureus* ATCC 25923, sont ensemencées par des stries centrales sur cette gélose. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation, les boîtes sont inondées avec une solution d'HCl à 2N. Le test est dit positif lorsqu'il y a apparition d'une zone claire autour des stries.

Identification biochimique des *Escherichia coli*

Afin d'identifier *E.coli*, un ensemble de tests biochimiques ont été réalisés :

- **TSI** : utilisé pour la recherche de la dégradation des 3 sucres : glucose, lactose et saccharose. A l'aide d'une pipette Pasteur, deux colonies caractéristiques d'*E. coli* sont prélevées de la gélose Mac Conkey, puisensemencées par pique centrale et par stries sur la gélose TSI, préalablement coulée en pente. L'incubation est réalisée à 37°C/24 heures. La fermentation du sucre se présente sous forme d'un virage de couleur (acidification du milieu).
- **Citrate de Simmons** : ce test est utilisé pour tester l'utilisation du citrate comme seule source de carbone par la bactérie. Il est réalisé par des stries sur la pente. L'incubation est faite à 37°C pendant 24heures. Le milieu est vert, en cas de résultats positifs il va virer vers une couleur bleue.
- **Urée-indole** : ce test permet de mettre en évidence la production d'indole et la dégradation de l'urée. Deux colonies caractéristiques sont prélevées etensemencées dans le bouillon urée-indole, puis incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, le virage du milieu jaune vers le rouge est une preuve de la présence de l'uréase. Pour l'indole, 2 gouttes du réactif de Kovacs sont rajoutées, le résultat positif sera présenté par l'apparition d'un anneau rouge.
- **Mannitol-mobilité** : on teste l'utilisation du mannitol comme seule source de carbone et la mobilité de la souche par réalisation d'une pique centrale. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24h. L'utilisation du mannitol se manifestera par le virage de la couleur du milieu rouge vers le jaune (acidification), la mobilité sera observée sous forme d'un sapin renversé.
- **Oxydase** : ce test permet la mise en évidence la présence ou l'absence de l'enzyme oxydase qui peut oxyder le N-diméthyl-paraphénylene diamine, chez les bactéries Gram négatives, ce qui donne des produits violacés. Pour cela, un volume d'eau physiologique a été mis dans un tube stérile, dans lequel un disque d'oxydase a été rajouté, ensuite à l'aide d'une anse à boucle stérilisée, nous avons prélevé 2 à 3 colonies caractéristiques. Après quelques secondes, le test est négatif, suite au non virage du milieu vers le violet, et ce dernier reste transparent.

IV.4.3. Réalisation des antibiogrammes

Une suspension bactérienne est préparée à partir d'une culture jeune de la souche à tester, préalablement cultivée sur une gélose. La densité optique de cette suspension est comprise entre 0,49 et 0,51 MacFarland. Des boîtes contenant de la gélose Mueller-Hinton ont étéensemencées par la technique d'écouvillonnage. Des disques d'antibiotiques sont appliqués à l'aide d'une pince stérile sur la surface de cette gélose. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 heures.

La classification des souches sensibles, intermédiaires ou résistantes a été réalisée selon les diamètres des zones d'inhibition prescrites dans le CLSI (2020).

Les antibiotiques utilisés lors de la réalisation des antibiogrammes pour *Staphylococcus aureus* sont :

- **Les bêta-lactamines** comme : **CXN** : Céfalexine ; **PEN** : Pénicilline ; **P** : Pénicilline G ; **FOX** : Céfoxitine.
- **Aminosides**: **GMI** : Gentamicine ;
- **Macrolides** : **ERY** : Erythromycine ;
- **Lincosamides** : **CMN** : Clindamycine ;
- **Sulfamidés** : **SXT** : Triméthoprim + Sulfaméthoxazole ;
- **Tétracyclines** : **TE** : Tétracycline ;
- **Quinolones** : **NOR** : Norfloxacin.

Les antibiotiques utilisés lors de la réalisation des antibiogrammes pour *Escherichia coli* sont :

- **Bêta-lactamines** comme : **AMX** : Amoxicilline ; **AMC** : Amoxicilline+Acide clavunonique ; **ERT** :Ertapénème ; **CF** : Céfalotine ; **AMP** : Ampicilline ; **CTX** : Céfotaxime ;
- **Sulfamidés** : **SXT** : Triméthoprim + Sulfaméthoxazole ; **SSS** : Sulfonamide ;
- **Aminosides**: **NEO** : Néomycine ; **GMI** : Gentamicine ;
- **Tétracyclines** : **TE** : Tétracycline ;
- **Polypeptides** : **COL** : Colistine ;
- **Phénicolés** : **CHL** ; Chloramphénicol ;
- **Quinolones**: **UBN**: Fluméquine ;
- **AcidePhosphonique** : **FSF** : Fosfomycine ;
- **Diamino-pyrimidines** : **TMP** : Triméthoprim.

Les antibiotiques utilisés lors de la réalisation des antibiogrammes pour *Providencia* sont :

- **Bêta-lactamines** comme : **AMC** : Amoxicilline+Acide clavunonique ; **CF** : Céfalotine ; **AMP** : Ampicilline ; **CTX** : Céfotaxime ; **CAZ** : Céftazidime ; **FUR** : Céftiofure ; **FEP** : Céfépime ;
 - **Quinolones** : **UBN** : Fluméquine ;
 - **Fluoroquinolones** : **MAR** : Marbofloxacin ; **ENR** : Enrofloxacin ;
 - **Aminosides** : **GMI** : Gentamicine ; **NEO** : Néomycine ;
 - **Tétracyclines** : **TE** : Tétracycline ;
 - **Polypeptides** : **COL** : Colistine ;
 - **Phénicolés** : **CHL** ; Chloramphénicol ;
 - **Nitrofurane** : **F** : Nitrofurantoin.
- **Test pour la mise en évidence des bêta-lactamases à spectre élargi ou BLSE**

Les bêta-lactamases à spectre élargi ou BLSE sont des enzymes produites par les bacilles à Gram-négatif hydrolysant les céphalosporines de troisième génération (C3G) et l'aztréonam mais restant généralement inhibées *in vitro* par l'acide clavulanique. Afin de mettre la lumière sur ces BLSE, nous avons appliqué un disque d'Amoxicilline+Acide clavunonique à côté d'un autre de Céfotaxime qui est une céphalosporine de 3^{ème} génération. Après incubation de 24 heures à 37°C, s'il y a apparition d'une zone d'inhibition sous forme d'un bouchon de champagne, cela veut dire apparition des bêta-lactamases à spectre élargi ou BLSE.

Les antibiotiques utilisés lors de la réalisation des antibiogrammes pour *Streptococcus* sont :

- **Bêta-lactamines** comme : **AMP** : Ampicilline ; **PEN** : Pénicilline ;
- **Tétracyclines** : **TE** : Tétracycline ;
- **Fluoroquinolones** : **ENR** : Enrofloxacin ;
- **Glycopéptides** : **VAN** : Vancomycine ;
- **Macrolides** : **ERY** : Erythromycine ; **TIL** : Tilmicosine ;
- **Lincosamides** : **LCN** : Lincomycine ;
- **Sulfamidés** : **SXT** : Triméthoprime + Sulfaméthoxazole ;
- **Aminosides** : **STR** : Streptomycine.

Chapitre V : **Résultats et discussion**

V.1. Résultats

Nous avons réalisé des prélèvements à travers des élevages laitiers où nous avons collecté 84 échantillons de lait mammitieux dans la région de Ouaguenoune et 60 échantillons dans la région de Tigzirt, soit un nombre total de 144 échantillons. 41 échantillons sont positifs, ce qui représente une fréquence de 28.47% (Tableau 01).

Tableau 01 : Prévalence des mammites cliniques et subcliniques chez la vache laitière à Tigzirt et à Ouaguenoune

| Région | Elevage | Nombre de vaches dépistées | Nombre de vaches infectées | Pourcentage de vaches infectées (%) |
|---------|---------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------------|
| Tigzirt | 01 | 01 | 00 | 00 |
| | 02 | 01 | 01 | 100 |
| | 03 | 02 | 02 | 100 |
| | 04 | 02 | 01 | 50 |
| | 05 | 04 | 04 | 100 |
| | 06 | 04 | 00 | 00 |
| | 07 | 05 | 04 | 80 |
| | 08 | 03 | 01 | 33.33 |
| | 09 | 05 | 01 | 20 |
| | 10 | 09 | 00 | 00 |
| | 11 | 04 | 01 | 25 |
| | 12 | 01 | 00 | 00 |
| | 13 | 05 | 01 | 20 |
| | 14 | 07 | 01 | 14.28 |
| | 15 | 04 | 01 | 25 |
| | 16 | 03 | 02 | 66.66 |

Tableau 01 : Prévalence des mammites cliniques et subcliniqueschez la vache laitière à Tizirt et à Ouaguenoune (Suite)

| Région | Elevage | Nombrede vaches dépistées | Nombre de vaches infectées | Pourcentage de vaches infectées (%) |
|-------------|--------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|
| Ouaguenoune | 17 | 06 | 00 | 00 |
| | 18 | 07 | 03 | 42.8 |
| | 19 | 10 | 03 | 30 |
| | 20 | 05 | 01 | 20 |
| | 21 | 04 | 02 | 50 |
| | 22 | 04 | 03 | 75 |
| | 23 | 05 | 01 | 20 |
| | 24 | 10 | 00 | 00 |
| | 25 | 06 | 00 | 00 |
| | 26 | 07 | 02 | 28,57 |
| | 27 | 04 | 02 | 50 |
| | 28 | 16 | 04 | 25 |
| | total | 144 | 41 | 28.47 |

Le pourcentage total des cas positifs est de 28.47% représentés par 41 échantillons incluant des cas de mammites cliniques et subcliniques. Sur les 60 prélèvements collectés à Tizirt, 15 cas (25%) sont des cas de mammites subcliniques, uniquement 5 (8.33%) cas cliniques sont observés, les 40 cas restants (66.66%) sont sains. Presque les mêmes résultats sont enregistrés dans la région de Ouaguenoune, avec 16 cas subcliniques (19%), 5 cas (6%) sont cliniques, les 63 cas restants (75%) sont sains.

Sur les deux régions, une moyenne de 21 % est subclinique,7% des cas sont cliniques et 72% restants sont sains.

V.1.1. Prévalence des germes responsables de mammites

A partir des 41 échantillons positifs, nous avons réussi à isoler 48 souches bactériennes réparties comme suit :

- 29 souches de *Staphylococcus aureus* (60.42%) ;

- 12 souches d'*Escherichia coli* (25%) ;
- 2 souches de *Providencia* (4.17%) ;
- 5 souches de *Streptococcus* (10.42%).

Ces échantillons positifs sont répartis, selon les germes qu'ils renferment, comme suit :

- 25 échantillons contaminés de *Staphylococcus aureus*;
- 10 échantillons contaminés par les entérobactéries incluant 09 échantillons contaminés par *Escherichia coli* et 01 échantillon contaminé par *Providencia* ;
- 02 échantillons contaminés par *Streptococcus*;

Les quatre échantillons restants sont contaminés par au moins deux germes et sont répartis comme suit :

- 1 échantillon est contaminé par les trois germes incluant *S.aureus*, *E.coli*, et *Streptococcus* ;
- 1 échantillon est contaminé par *S.aureus*, *E.coli*, *Providencia* et *Streptococcus* ;
- 1 échantillon est contaminé par *S.aureus* et *E.coli* ;
- 1 échantillon est contaminé par *S.aureus* et *Streptococcus*.

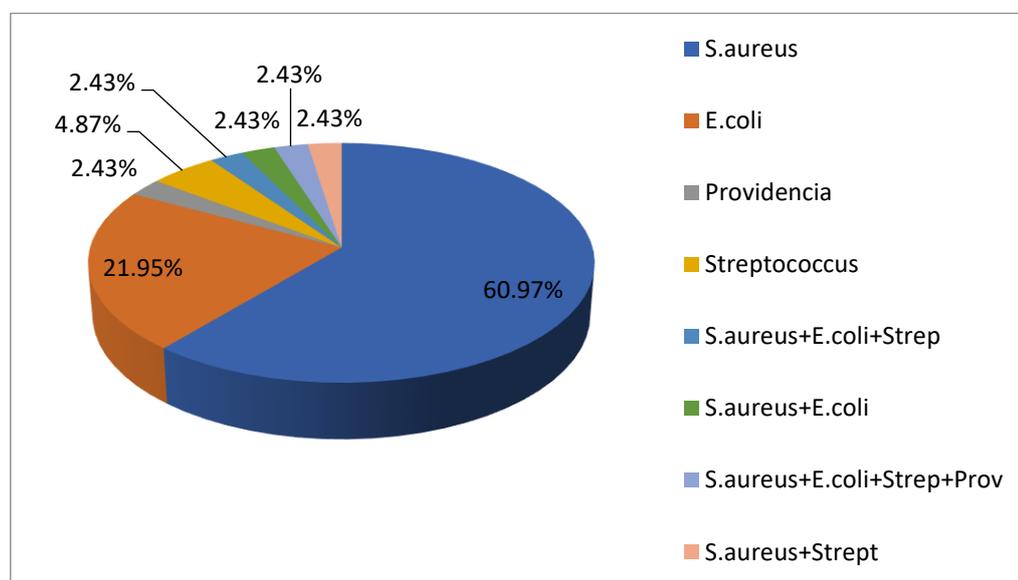


Figure 11 : Répartition des échantillons du lait mamiteux selon le type de bactérie isolée.

V.1.2. Résistance des souches isolées aux antibiotiques

V.1.2.1. Résistance des souches de *S. aureus* isolées

Au cours de cette étude, nous avons isolé 29 souches de *Staphylococcus aureus*. L'étude de leurs profils de résistance aux antibiotiques a montré que toutes les souches étaient résistantes à la pénicilline. De faibles résistances vis-à-vis de la tétracycline, l'érythromycine et de l'association triméthoprim/sulfaméthoxazole, avec des taux de 10.3%, 10.3% et 3.44%, respectivement. Aucune résistance vis-à-vis des autres molécules n'a été observée (Tableau 02).

Tableau 02 : Profil de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées (n=29).

| Antibiotique | Résistante (Nombre et %) | Intermédiaire (nombre et %) | Sensible (nombre et %) |
|--------------|--------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| CXN | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 29 (100 %) |
| PEN | 29 (100 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %) |
| FOX | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 29 (100 %) |
| P | 29 (100 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %) |
| CMN | 0 (0 %) | 4 (13,7 %) | 25 (86,3 %) |
| SXT | 1 (3,44 %) | 0 (0 %) | 28 (96,56 %) |
| TE | 3 (10,3 %) | 0 (0 %) | 29 (100 %) |
| ERY | 3 (10,3 %) | 0 (0 %) | 29 (100 %) |
| NOR | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 29 (100 %) |
| GMI | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 29 (100 %) |

CXN : Céfalexine ; **NOR :** Norfloxacin ; **PEN :** Pénicilline ; **GMI :** Gentamicine ; **ERY :** Erythromycine ; **CMN :** Clindamycine ; **SXT :** Triméthoprim + Sulfaméthoxazole ; **P :** Pénicilline G ; **FOX :** Céfoxitine ; **TE :** Tétracycline.

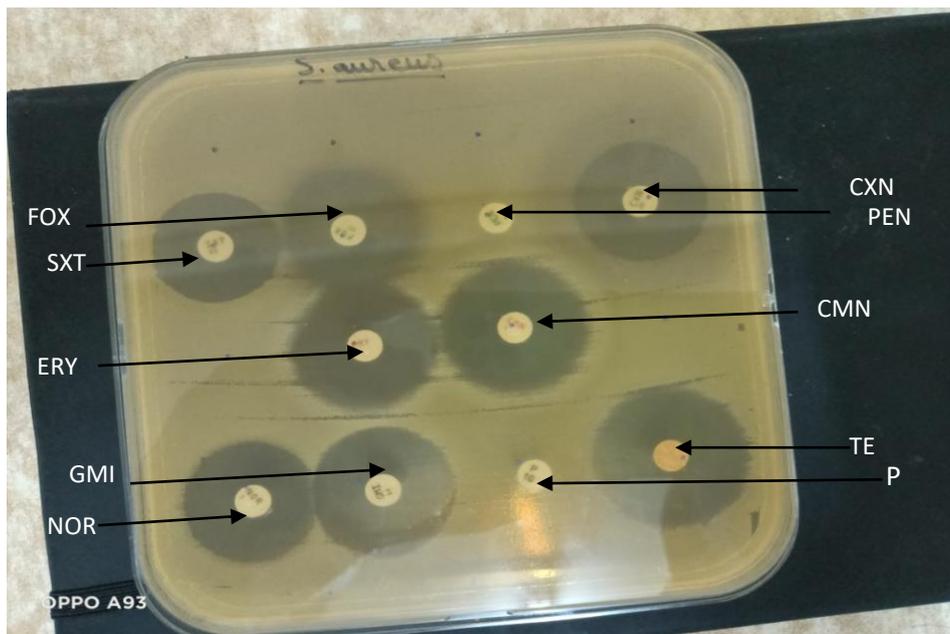


Figure 12: Profil de résistance de la souche de *S.aureus* D26 (photo prise au laboratoire)

V.2.1.2. Résistance des souches d'*E.coli* isolées

Au cours de cette étude, nous avons isolé 12 souches d'*Escherichia coli*. L'étude de leurs profils de résistance aux antibiotiques a montré que la majorité des souches étaient résistantes à l'amoxicilline et à l'ampicilline avec des taux de 91.6% et 66.66% respectivement. De faibles résistances vis-à-vis de la tétracycline et la céfalotine, avec des taux de 16.6%, respectivement. Aucune résistance vis-à-vis des autres molécules n'a été observée (Tableau 03).

Tableau 03 : Profil de résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées (n=12).

| Antibiotique | Résistante (nombre et %) | Intermédiaire (nombre et %) | Sensible (nombre et %) |
|--------------|--------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| AMX | 11 (91.6 %) | 0 (0 %) | 1 (8.4 %) |
| AMC | 0 (0 %) | 4 (33.33 %) | 8 (66.66 %) |
| ETP | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 12 (100 %) |
| CF | 2 (16.6 %) | 0 (0 %) | 10 (83.4 %) |
| AMP | 8 (66.66 %) | 0 (0 %) | 4 (33.33 %) |
| CTX | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 12 (100 %) |
| SXT | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 12 (100 %) |
| SSS | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 12 (100 %) |
| NEO | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 12 (100 %) |
| GMI | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 12 (100 %) |
| TE | 2 (16.6 %) | 0 (0 %) | 10 (83.4 %) |
| COL | 0 (0 %) | 2 (16.6 %) | 10 (83.4 %) |
| C | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 12 (100 %) |
| UBN | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 12 (100 %) |
| FSF | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 12 (100 %) |
| TMP | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 12 (100 %) |

AMX : Amoxicilline ; **AMC** : Amoxicilline+Acide clavunalique ; **ERT** :Ertapénème ; **CF** : Céfalotine ; **AMP** : Ampicilline ; **CTX** : Céfotaxime ; **SXT** : Triméthoprim + Sulfaméthoxazole ; **SSS** : Sulfonamide ; **NEO** : Néomycine ; **GMI** : Gentamicine ; **TE** : Tétracycline ; **COL** : Colistine ; **C** :Chloramphénicole ; **UBN** : Fluméquine ; **FSF** : Fosfomycine ; **TMP** : Triméthoprim.

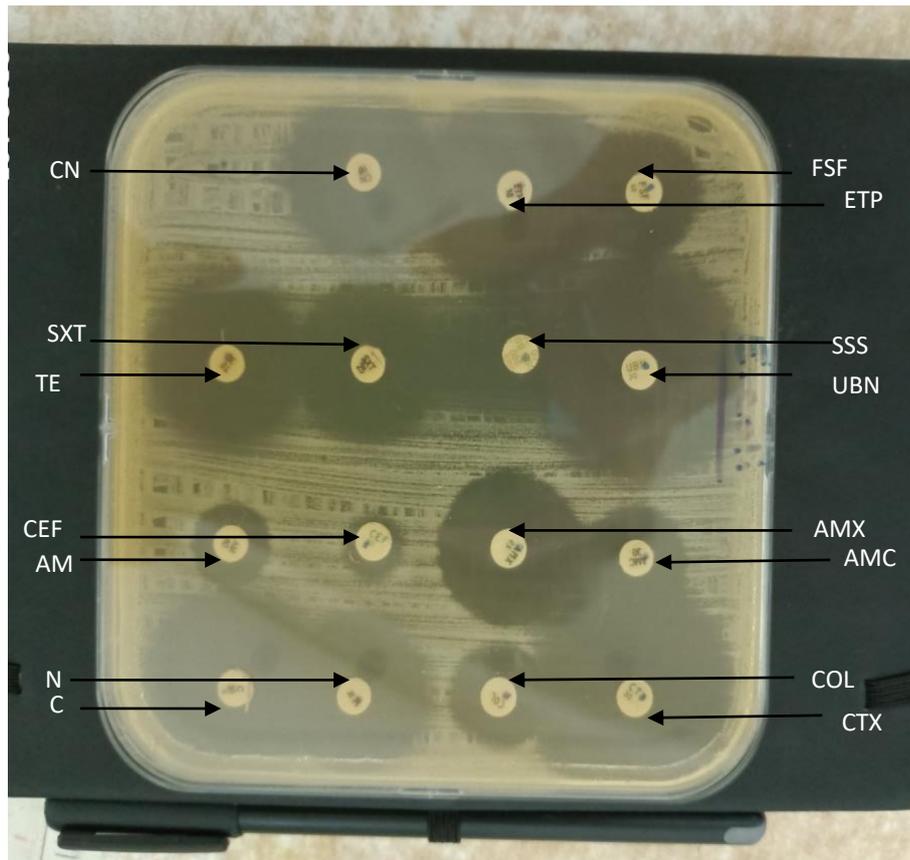


Figure 13: Profil de résistance de la souche d'*E.coli* D10 (photo prise au laboratoire)

V.2.1.3. Résistance des souches de *Providencia* isolées

Dans le cas de *Providencia*, 100% des souches isolées sont résistantes à l'ampicilline, la céfalotine et à la nitrofurantoïne. La moitié des souches (50%) sont résistantes à l'amoxicilline + acide clavulanique (Tableau 04).

Tableau 04 : Profil de résistance des souches de *Providencia* isolées (n=2).

| Antibiotique | Résistante (nombre et %) | Intermédiaire (nombre et %) | Sensible (nombre et %) |
|--------------|--------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| AMC | 1 (50 %) | 0 (0 %) | 1 (50 %) |
| AMP | 2 (100 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %) |
| MAR | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 2 (100 %) |
| GMI | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 2 (100 %) |
| NEO | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 2 (100 %) |
| C | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 2 (100 %) |
| ENR | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 2 (100 %) |
| CF | 2 (100 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %) |
| CAZ | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 2 (100 %) |
| FUR | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 2 (100 %) |
| CTX | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 2 (100 %) |
| UBN | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 2 (100 %) |
| F | 2 (100 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %) |
| FEP | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 2 (100 %) |
| COL | 0 (0 %) | 1 (50 %) | 1 (50 %) |
| TE | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 2 (100 %) |

AMC : Amoxicilline+Acide clavunalique ; **CF** : Céfaloine ; **AMP** : Ampicilline ; **CTX** : Céfotaxime ; **CAZ** : Céftazidime ; **FUR** : Céftiofure ; **FEP** : Céfépime ; **UBN** : Fluméquine ; **MAR** : Marbofloxacine ; **ENR** : Enrofloxacine ; **F** : Nitrofurantoïne ; **CN** : Gentamycine ; **N** : Néomycine ; **CT** : Colistine ; **TE** : Tétracycline ; **C** : Chloramphénicole.

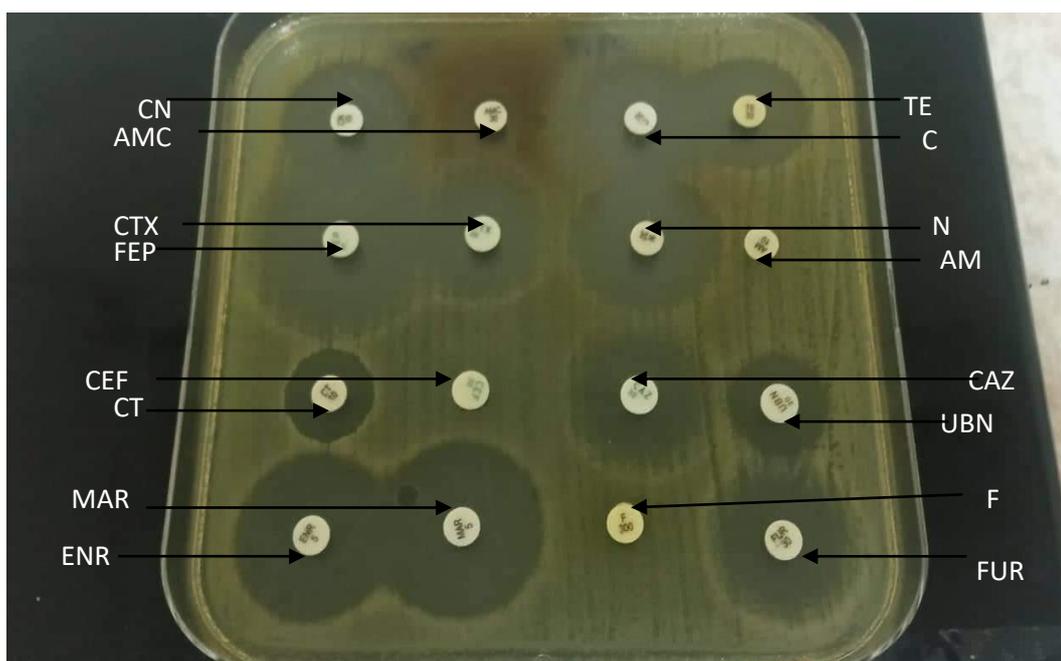


Figure 13: Profil de résistance de la souche de *Providencia* V39 (photo prise au laboratoire)

V.1.2.4. Résistance des souches de *Streptococcus* spp isolées

Concernant les Streptocoques, la totalité des souches isolées sont résistantes à la tétracycline, la streptomycine, la lincomycine, ainsi qu'à la pénicilline. Ils présentent également une forte résistance également à l'ampicilline de l'ordre de 80%. Une résistance relativement faible à l'égard de la tilmicosine à été enregistrée, de l'ordre de 20% (Tableau 05).

Tableau 05 : Profil de résistance des souches de *Streptococcus* isolées (n=5)

| Antibiotique | Résistante (nombre et %) | Intermédiaire (nombre et %) | Sensible (nombre et %) |
|--------------|-----------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| AMP | 4 (80 %) | 0 (0 %) | 1 (20 %) |
| PEN | 5 (100 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %) |
| TE | 5 (100 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %) |
| VAN | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 5 (100 %) |
| ENR | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 5 (100 %) |
| ERY | 0 (0 %) | 2 (40 %) | 3 (60%) |
| SXT | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 5 (100 %) |
| STR | 5 (100 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %) |

| | | | |
|-----|-----------|---------|---------|
| LCN | 5 (100 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %) |
|-----|-----------|---------|---------|

AMP: Ampicilline ; **PEN:** Pénicilline ; **TE :** Tétracycline ; **VAN :** Vancomycine ; **ENR :** Enrofloxacin ; **ERY :** Erythromycine ; **S XT :** Triméthoprim + Sulfaméthoxazole ; **STR :** Streptomycine ; **LCN :** Lincomycine ; **TIL :** Tilmicosine.

Suite à la réalisation des antibiogrammes pour les souches de *Staphylococcus aureus* et celles d'entérobactéries (*E. coli* et *Providencia*) isolées, nous n'avons pas pu obtenir des souches ayant un profil de multi-résistance vis-à-vis des antibiotiques testés.

Par contre, nous avons réussi à isoler une souche de *Streptococcus* multi-résistante, qui a le phénotype suivant : **TE – STR–LCN**.

V.2. Discussion

Les mammites resteront un problème majeur dans le domaine de la santé animale, notamment chez le bovin laitier, que ce soit des mammites cliniques ou subcliniques. Dans la présente étude, un pourcentage de 7% a été enregistré pour les cas cliniques inférieur à ceux apportés par BENHAMED et al, (2011) et LAMARA et al, (2020), qui ont signalé des prévalences de 53.83% et 36%, respectivement.

Pour les cas cliniques, nous avons observé une valeur de 93 %, supérieur à celles enregistrées par BENHAMED et al, (2011) et LAMARA et al, (2020), qui ont enregistré des valeurs de 46.17% et 64%. D'autres prévalences concernant les mammites subcliniques ont été rapportées dans les différentes régions en Algérie. En effet, au nord-est Algérien, HOCINE et al, (2021) ont rapporté une prévalence de mammites cliniques de l'ordre de 9.25% et de mammites subcliniques de l'ordre de 31.79%. Des taux de mammites subcliniques de l'ordre de 62.8% (MESKINI et al, 2021), 28.27% (SAIDI et al, 2013), 26% (AIT KAKI et al, 2019) et 45.9% (AKKOU et al, 2018) ont été rapportés. En Tunisie, (MAALAOUI et al, 2021) ont une forte incidence de mammites subcliniques, avec une valeur de 60.3%. Notons que la mammité est une maladie qui peut être influencée par plusieurs facteurs, incluant l'environnement, les pratiques d'élevage, la physiologie du pis et la santé de l'animal (LOPES et al, 2020).

La connaissance des agents pathogènes du pis causant la mammité reste très importante pour une bonne prise en charge de ces infections et le suivi continu de la santé du pis dans les troupeaux laitiers (MAALAOUI et al, 2021). Il existe trois grandes catégories de bactéries qui peuvent infecter la glande mammaire, incluant les bactéries contagieuses, environnementales et les agents pathogènes opportunistes. La première catégorie vivent sur le pis et sont transmis des trayons infectés aux trayons non infectés lors des opérations de la traite, les bactéries opportunistes ont de très fortes propriétés adhésives qui les aident à envahir la paroi interne de la glande. En revanche, les bactéries environnementales résident généralement dans l'environnement de la ferme et la litière et se transmettent durant la traite (ASHRAF et IMRAN, 2019).

Concernant les germes causant ces infections intra-mammaires, d'après (BENHAMED et al, 2011), le germe le plus dominant est le *Staphylococcus aureus* à 30.76% qui est un pathogène contagieux et est le premier responsable des cas cliniques (DEBDREIL, 2008). Ce taux de prévalence des staphylocoques est beaucoup moins important à celui enregistré dans

notre étude qui est de 60.42%. Notre résultat corrobore avec ceux de plusieurs auteurs qui ont signalé que le *S. aureus* est la bactérie la plus isolées dans des cas de mammites subcliniques (SAIDI et al, 2013; AIT KAKI et al, 2019; DEMIL et al, 2022). Selon (CHENG et HAN, 2020), le réservoir fondamental de *S. aureus* est la glande mammaire chroniquement infectée. Pour cette raison, le maintien de l'hygiène du pis et de la traite peut protéger une vache en bonne santé contre une vache infectée, réduisant ainsi l'infection.

En revanche pour les *Enterobacteriaceae*, plus précisément *Escherichia coli*. Une prévalence de l'ordre de 23.07% a été rapportée par BENHAMED et al, (2011), cette valeur est proche à celle de notre étude, qui est de 29.3 %. Une faible prévalence de mammites subcliniques à *Escherichia coli* a été observée par d'autres auteurs (SAIDI et al, 2013; MAALAOUI et al, 2021).

La prévalence des *Streptococcuspp* enregistrée dans notre étude est de 12.2%. Cette valeur est proche à celles enregistrées par plusieurs auteurs en Algérie (BOUAZIZ et al, 2002 ; BENHAMED et al, 2011 ; AIT KAKI et al, 2019 ; MESKINI et al, 2021). Des prévalences légèrement élevées sont observées par BIRHANU et al, (2017) et ABRAHMSSEN et al, (2014), qui sont de l'ordre de 25.3% et 16.2%, respectivement.

La variation de prévalence des bactéries responsables de mammites reste en relation directe avec de nombreux paramètres, tels que l'état d'hygiène de l'élevage, la qualité de l'alimentation et des fourrages, et l'état de santé de l'animal.

Dans notre étude, 100 % des isolats de *Staphylococcus aureus* présentent une résistance à la pénicilline et la pénicilline G. Ce taux est plus proche à celui de SAIDI et al, (2015) qui ont rapporté une forte résistance à cette molécule. Notre résultat corrobore avec ceux de plusieurs auteurs qui ont signalé de fortes résistances des souches de *S. aureus* isolées des cas de mammites à la pénicilline (ABRAHMSSEN et al, 2014; NDAHETUYE et al, 2019; DEMIL et al, 2022). La résistance de *S. aureus* à la pénicilline peut être attribuée à la production de pénicillinases, enzymes capables d'inactiver les pénicillines. Cette forte résistance vis-à-vis cette molécule est probablement liée à l'utilisation accrue de la pénicilline pour le traitement des cas de mammites bovines.

En revanche, de faibles résistances vis-à-vis de l'érythromycine et de la tétracycline ont été observées dans notre étude, ce qui ne rejoint pas les résultats de certains auteurs, qui ont observé de fortes résistances à l'encontre de ces deux antibiotiques (HAFTU et al, 2012; DEMIL et al, 2022).

Les souches d'*Escherichia coli* isolées ont exprimé de fortes résistances vis-à-vis de l'amoxicilline et de l'ampicilline. Nos résultats corroborant avec ceux de HAFTU et al, (2012) et FERDOUSI et al, (2021), qui ont rapporté de fortes résistances à l'ampicilline. Une faible résistance vis-à-vis de la tétracycline a été observée dans cette étude, ce qui est en accord avec SEDRATI et al, (2020).

A propos de l'antibiorésistance des souches de *Providencia*, 100 % des isolats sont résistants à l'ampicilline, la céfalotine, et le nitrofurantoin. Nos résultats corroborant avec ceux de AYYAL AL-GBURI, (2020), qui a signalé des résistances de l'ordre de 94.4% et de 100% vis-à-vis de l'ampicilline et de la nitrofurantoin. En revanche, une faible résistance a été enregistrée contre l'acide clavulanique, une valeur inférieure à celle observée par AYYAL AL-GBURI, (2020).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Streptococcus* isolées, montre que la totalité (100%) des isolats est résistante vis-à-vis de la pénicilline, de la tétracycline, de la streptomycine et de la lincomycine. Ces taux enregistrés sont supérieurs à ceux trouvés par NDIRANGU et al, (2017), qui sont respectivement de 50 % et 75% pour la tétracycline et la streptomycine. Concernant l'ampicilline, nous avons obtenu un taux de résistance de 80%, considérablement supérieur à celui signalé par le même auteur.

En prenant compte de ces présents résultats obtenus et ceux des études antérieures, il est suggérable qu'une sélection de bactéries résistantes a eu lieu suite à l'usage abusif d'antibiotiques dans les exploitations laitières.

Conclusion

Les mammites constituent l'une des pathologies majeures de l'élevage de bovin laitier en Algérie. En effet, ces infections entraînant une baisse de la production laitière chez les ruminants, qui est associée à une augmentation des taux cellulaires. Cette dernière pourrait avoir des effets néfastes sur les caractéristiques biochimiques et technologiques du lait.

Notre étude s'est focalisée sur la détermination de la prévalence et l'antibiorésistance des bactéries responsables de mammites chez le bovin laitier au niveau de quelques élevages de la Wilaya de Tizi Ouzou.

Les résultats obtenus de cette étude montrent une faible prévalence des mammites bovines. En effet, sur les 144 prélèvements effectués, uniquement 41 (28.47%) se sont révélés positifs, incluant des cas de mammites cliniques et des cas de mammites subcliniques. Un total de 48 souches bactériennes ont été isolées, incluant 29 souches de *S. aureus*, 12 d'*Escherichia coli*, 2 de *Providencia* sp et 5 de *Streptococcus* sp.

L'étude de la sensibilité des souches isolées a montré l'existence des résistances avec des taux variables selon l'espèce bactérienne considérée et la molécule d'antibiotique testée. En effet, les souches de *S. aureus* isolées étaient résistantes vis-à-vis de la pénicilline. De fortes résistances vis-à-vis de l'amoxicilline et de l'ampicilline ont été enregistrées chez les souches d'*Escherichia coli*. Tandis que, les souches de *Providencia* sp et celles de *Streptococcus* sp ont exprimé de fortes résistances vis-à-vis plusieurs molécules d'antibiotiques.

Compte tenu des résultats obtenus lors de cette étude et ceux de plusieurs auteurs, nous pouvons dire que, les infections mammaires sont considérées comme un sérieux problème en santé animale, vu les pertes économiques considérables que ces infections peuvent engendrer. Pour diminuer les fortes prévalences des mammites, des plans de luttés et de gestion doivent être mis en place, tels que le dépistage régulier et périodique des cas de mammites dans les exploitations laitières et le suivi sanitaire des vaches. La vulgarisation et la formation continue des éleveurs sur les bonnes pratiques d'hygiène est primordiale pour lutter contre tout types de mammites.

Enfin, ces microorganismes responsables de mammites peuvent être à la fois, des agents causaux de l'infection, mais aussi des réservoirs potentiels des gènes de résistance aux antibiotiques. Pour cela, la prévention reste le seul moyen pour une bonne maîtrise de la propagation des formes de multirésistances.

Références Bibliographiques

ABRAHIMSEN.M ; PERSSON.Y, MBABAZI KANYIMA.B, BAGE.R, (2014). Prevalence of subclinical mastitis in dairy farms in urban and peri-urban areas of Kampala, Uganda. *Tropical Animal Health Production* 46:99–105.

AFSSA, (2014). Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments ; p: 214.

AGGAD. H, MAHOUZ. F, AMMAR. Y and KIHAL.M, (2009). Of the hygienic quality of milk in Western Algeria. *Revue Medecine Veterinary*, 12: 590-595.

AIT KAKI.A , DJEBALA.S , LATIF.M, MOULA.N, (2019). Evaluation of the Prevalence of Subclinical Mastitis in Dairy Cattle in the Soummam Valley (Bejaia, Algeria). *Bulletin UASVM Veterinary Medicine* 76 (2).

AKKOU.M, BOUCHIAT.C, ANTRID.K, BESB.M, TRISTANB.A, DAUWALDER.O, MARTINS-SIMoes.P, RASIGADE.JP, ETIENNE.J, VANDENESCH.F, RAMDANI-BOUGUESSA.N, LAURENT.F, (2018). New host shift from human to cows within *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis and nasal carriage of animal's caretakers. *Veterinary Microbiology* 223, 173–180.

ANGULO.F, LEJEUNE.J, RAJALA-SCHULTZ.P, (2009). Unpasteurized Milk: a continued public health threat. *Clinical infections Diseases* 48 (1): 93-100.

ANING.KG, DONKAR.ES, OMORE.A, NURAH.GR, OSAFO.ELK and STAAL. S, (2007). Risk of exposure to marketed milk with antimicrobial drug residues in Ghana. *The open food science journal*. 1, 1-5.

ASHRAF.A, IMRAN.M, (2019). Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. *Animal Health Research Reviews* 1-14.

AULDIST, (2011). Milk quality and udder health; effecton processing characteristics Encyclopedia of dairy sciences. Elsevier BV. 902-907.

AWALE. MM, DUDHATRA. GB, KUMAR. A, CHAUHAN. BN, and KAMANI. DR (2012). Bovine mastitis: A threat to economy. Department of pharmacology and toxicology. College of Veterinary Science and Animal Husbandry. Sardarkrushinagar Dantiwada Agricultural Universty, Gujarat, India; 1, 295.

AXFORD. RFE, BISHOP.SC, NICHOLAS. FW and OWEN.JB (2000). Breeding dor disease resistance in farm animals. CABI publishing.

AYYAL AL-GBURI, (2020). Isolation and Molecular Identification and Antimicrobial Susceptibility of *Providencia spp.* from Raw Cow's Milk in Baghdad, Iraq

BARONE.R, (2001). Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tom 4, Splanchnologie II. Paris : Vigot. ISBN2-7114-8188-3.896p.

BENDAHOU.A, LEBBADI.M, ENNANNEIL, ESSADQUI.F, ABID.M, (2008). Characterization of Staphylococcus species isolated from raw milk and milk products (Iben et jben) in North Morocco. Journal of infections in developing countries, 2(3): 218-225.

BENHAMED et KIHAL, (2013). Phenotypic and Genotypic Characterization of Staphylococcus aureus Agents of Dairy Cows'Mastitis in Algeria. J. Appl. Sci. Res., 9(1): 86-93.

BENHAMED. N, MOULAY.M, AGGAD. H, HENNI. JE, and KIHAL M, (2014). Prevalence of mastitis infection and identification of causing bacteria in the cattle in Oran region West Algeria. Journal of Animal and Veterinary advances. 10(22): 3002-3005.

BENSAKHRIA.A (2018). Entérobactériaceae.

BERTHELOT V, (2018). Alimentation Des Animaux Et Qualité De Leurs Produits. Editions TEC & DOC. Agriculture d'Aujourd'hui, Lavoisier, pp : 442. Paris.

BILLON.P, (2009). Traite des vaches laitières: matériel; installation, entretien. I. de l'élevage (France), editor. Ed. La France agricole. 555pp.

BIRHANU.M, LETA.S, MAMO.G et TESFAYE.S, (2017). Prevalence of bovine subclinical mastitis and isolation of its major causes in Bishoftu Town, Ethiopia. BMC Res Notes 10:767.

BLOWEY. RW (2010). Mastitis control in dairy herds. 2nd edition. Cambridge. pp266.

BOGNI. C, ODIERNO.LM, RASPANTI.C, GIRAUDO.J, LARRIESTRA.A, REINOSO.E, LASAGNO. M, FERRARI.M, DUCROS.E, FRIGERIO.C, BETTERA.S, PELLEGRINO.MS, FROLA.I, DIESER.SA and VISSIO.C (2011). War against mastitis: current concept on controlling bovine mastitis pathogens. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, A. Méndez-Vilas Edition, pp 483-493.

BORREANI.G, FERRERO.F, NUCERA.D, CASALE.M, PIANO.S, TABACCO.E, (2019). Dairy farm management practices and the risk of contamination of tank milk from *Clostridium* spp. and *Paenibacillus* spp. spores in silage, total mixed ration, dairy cow feces, and raw milk. Journal of Dairy Science, 102; n°9: 8273-8289.

BOUAZIZ. O, AIMER. R, KABOUIRA. R et BERERHI. EH, (2002). Prévalence des différents germes responsables de mammites cliniques de la vache dans l'Est algérien. pp.27-32.

BOUCHARD.D (2013). Potentiel probiotique des bactéries lactiques de l'écosystème mammaire bovin contre les mammites à *Staphylococcus aureus*.

BOUICHOU.EL (2009). Contribution à l'évaluation des pratiques frauduleuses dans le lait à la réception.

BOUKHATEM. MN, FERHAT. MA, HADJ MOHAMED R et LALAOUI. N, (2015). Prevalence and antibiotic resistance of Staphylococci isolated: 7(2): 260-270.

BOULTIF, (2015). Détection et quantification des résidus de terramycine et de pénicilline dans le lait de vache par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Thèse de Doctorat d'Etat Université Mentouri Constantine ; pages : 35-90.

BOUSQUET G, (2004). L'analyse lors d'une flambée de mammites cliniques: une étape indispensable riche d'enseignement. Journée Nationales GTV, Tours: 771-778.

BRADLEY, A. J, (2002). Bovine mastitis: an evolving disease. *The Veterinary Journal*, 164(2): 116-128.

CALLON.C, DUTHOIT.F, DELBES.C, FERRAND.M, LE FRILEUX Y, DE CREMOUX.R et MONTEL.MC, (2007). Stability of microbial communities in goat milk during a lactation year: molecular approaches. *Systematic and Applied Microbiology*, Elsevier, 30 (7): 547-560.

CAMUS, (2011). Fermentation lactique et son utilisation dans la fabrication du yaourt.

CATTOIR.V, DAUREL.C, (2010). Quelles nouveautés en antibiothérapie ? *Med Mal Infect*, 40: 134-135.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, *Streptococcus agalactiae*. Bacteria in photos. http://www.bacteriainphotos.com/Streptococcus_agalactiae_3D.html, consulté le 17 Juin 2022.

CERNIGLIA et KOTARSKI, (2005). Approaches in the safety evaluations of veterinary antimicrobial agents in food to determine the effects on the human intestinal microflora. *J Vet Pharmacol Therap*; 28(1):3-20.

CHARTON.C, LARROQUE.H, ROBERT-GRANIE.C, POMIES.D, LECLER.H, FRIGGENS.NC and GUINARD-FLAMENT .J, (2016). Individual responses of dairy cows to a 24-hour milking interval. *Journal of Dairy Science*, American Dairy Science Association, 2016, 99 (4), pp.3103-3112.

CHAUMARD.V (2020). Je gagne en réactivité grâce au CMT. *Cellules et mammites*.

CHENG.W et HAN.S, (2020). Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments — A review. *Asian-Australas Journal of Animal Sciences* 33:1699-1713.

CLEGG.T.A, LYNCH.P.J, O'GRADY.L, MORE.S.J, (2013). The effect of somatic cell count data adjustment and interpretation, as outlined in European Union legislation, on herd eligibility to supply raw milk for processing of dairy products. *96 (6)*, 3671-3681

COULON.J, (2002). Effect of Mastitis and related germ on milk yield and composition during naturally occurring udder infections in dairy cows. *Animal Research*, 51(05): 383-393.

COURTET LEYMARIOS, (2010). Florence. Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras : voies d'amélioration par l'alimentation. Thèse Doctorat ; École Nationale Veterinaire D'alfort, 113p, Créteil.

COURVALIN.P, (2005). Antimicrobial drug resistance: prediction is very difficult, especially about the future. *Emerg.Inf.Dis*; 11(10).

CROGUENNEC.T, JEANTET.R, BRULE.G, GARRIC.G, (2008). Fondement physicochimique de la technologie laitière. Pages 12-17.

CUMINET.JM, (2014). Vigilance accrue sur les résidus d'antibiotiques dans le lait. *L'éleveur laitier*, n°229, 66-67.

DEBREIL.E, (2008). The bacteriological analysis of milk from bovine mammary infections in veterinary practice applicable in practice and their interest in the treatment of mastitis. PhD. Thesis, Veterinary School of Alfort, France.

DELELESSE. GD (2010). Study on prevalence of bovine mastitis on cross breed dairy cow around Holeta areas, West Shoa Zone of Oromia, Ethiopia. *Global Vet.*, 5(6): 318-323.

DEMIL.E, TESHOME.L, KERIE.Y, HABTAMU.A, KUMILACHEW.W, ANDUALEM.T, ALEMU MEKONNEN.S, (2022). Prevalence of subclinical mastitis, associated risk factors and antimicrobial susceptibility of the pathogens isolated from milk samples of dairy cows in Northwest Ethiopia. *Preventive Veterinary Medicine* 205, 105680.

DENYER.P, HODGERS.NA, GORMAN.SP and Gilmore BF, (2011). *Hugo and Russell Pharmaceutical Microbiology*, 8th edition. WileyBlackWell Publishing House, New Delhi, India.

DOUBLET.B, BOUSQUET-MELOU.A, MADEC.JY (2012). Pour des aliments sains: savoir maîtriser les risques en alimentation.

DUGASSA.J, SHUKURIE.N, (2017). Review on antibiotic resistance and its mechanism of development. Journal of Health, Medecine and Nursing (JHMN). Vol.1, Issue 3 N°1, pp:1-17.

ERSKINE.R.J, WALKER.R.D, BOLIN.A, BARTLETT.P.C; WHITE.D.G, (2002). Trends in Antibacterial Susceptibility of Mastitis Pathogens During a Seven-Year Period. Journal Dairy Science. 85:1111–1118.

FERDOUSI.B; JAYEDUL.H; DELUAR.H, (2021). Virulence determinants and antimicrobial resistance of E. coli isolated from bovine clinical mastitis in some selected dairy farms of Bangladesh. Saudi Journal of Biological Sciences (28):6317-6323.

FREDOT, (2012). Connaissances des aliments ; Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Lavoisier. 613pp.

FRIC, (2005). Bovins laitiers : Mammites et qualité du lait. *Biofil*, 1 March 2005 (39): 40-42.

GALDIERO.S, FALONGA. A, CANTISANI.M, TARALLO. R, PEPA. M, D’ORIANO. V and GALDIERO.M, (2012). Microbe host interactions: structure and role of Gram negative bacterial porins in US National Library of Medicine.

GAUCHERON.F, (2010). Diversité des laits et des produits laitiers dans le monde. Colloque Cultures des laits du Monde Observatoire CNIEL des habitudes alimentaires, May 2010, Paris, France.

GRENON.C, FOURNIER. S et GOULET. J, (2004). Lait de qualité. Symposium sur les bovins laitiers, Longueuil, Québec.

GUIRAUD.JP, (1998). Microbiologie alimentaire. Techniques d’analyse microbiologique. Ed : Dunod. 696 pp.

HAFTU.R, TADDELE.H, GUGSA.G, et KALAYOU.S, (2012). Prevalence, bacterial causes, and antimicrobial susceptibility profile of mastitis isolates from cows in large-scale dairy farms of Northern Ethiopia. Tropical Animal Health Production 44:1765–1771.

HAMANN. J et GRIFFITHS. M, (2010). Mastitis and raw milk quality; safety and yield. Improving the safety and quality of milk. Volume 1 : Milk production and processing : 246-263p.

HAMANN. J. NOGAI. K., REDEZKY. R, GRABOWSKI. N.T. et HEIDE. A. 2002, (2002).Milk constituents as tools for Mastitis detection. Proc Satellite symp Novel Aspects of Mastitis therapy: 18-23p.

HAMEED.K, SENDER.G, KOEWIN-KOSSAKOWSKA.A, (2007). Public health hazard due to Mastitis in dairy cows. Animal science papers and reports, 2 (25).

HANZEN.CH, (2008). Anatomie-physiologie de la glande mammaire et du trayon.49 pp.

HOCINE.A, BOUZID.R, TALHI.H et KHELEF.D, (2021). An epidemiological study of bovine mastitis and associated risk factors in and around Eltarf District, northeast Algeria. VETERINARSKA STANICA 52 (5), 553-564.

HOGAN.J et SMITH.KL,(2003).Coliform mastitis. Veterinary Research. 34 (2003) 507–519.

HOLCOMB. HG, DURBIN.KJ, CHOI.KJ, DARLING. ND et ANGERIO.AD, (2008). Méthicilline resistance Staphylococcus aureus a threat to public health: A cellular approach. Journal of Health Sciences, Georgian University.

HOPKINS.J (2021). Pet scans help guide drug to best treat orthopaedic implant bacterial infections.

INSTITUT DE L'ELEVAGE (2008). Maladies des bovins. 4^{ème} Edition. Edition France Agricole.

JADOUL.T et RUPERT.R (2015). Comité du lait, Belgique.

JEANTET R., CROGUENNEC T., GARRIC G. et BRULE G, (2017). Initiation à La Technologie Fromagère. 2^{ème} Ed., Editions TEC & DOC, Lavoisier, Paris. 209p

JUNZA.A, BARRON.D, MONTANE.A, BARBOSA.J, MIGUILLON.C, (2014). High resolution mass spectrometry in the identification of transformation products and metabolites from β -lactam antibiotics in thermally treated milk. Journal of Chromatography A. 1368 (0): 89-99.

KEBIR, (2016). Les résidus d'antibiotiques de l'étable à la table. INMV (Institut National de Médecine Vétérinaire) de Mostaganem ; pages : 5-13.

KEFEE.GP, (1997). Streptococcus agalactiae mastitis: A review. Can Vet J 1997; 38:429-437.

KELLY. A.L, LEITNER. G, MERIN. U, (2011). Milk quality and udder health. Test methods and standards, Encyclopedia of dairy sciences: 894-901: Elsevier BV.

KIBEBEW.K (2017). Bovine mastitis: A review of causes and epidemiological point of view. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare, Vol7, N°2, 1-4.

KIENINGER. AN and LIPSETT. PA, (2009). Hospital acquired pneumonia: pathophysiology, diagnosis, and treatment. Surg.Clin.North.Am; 89: 439-461.

KOWALSKI. T, BERBARI. E, OSMON. D(2005). Epidemiology treatment, and prevention of community acquired meticillin-resistant Staphylococcus aureus infections.9(80).9.

KRÓL. J, LITWIŃCZUK. Z and BRODZIAK. A (2015). Factors determining the susceptibility of cow to mastitis and losses incurred by producers due to the disease. Annals of Animal Scienc, 15 (4): 1-24.

KUNDA.J, FITZPATRICK.J, KAZWALA.R (2007). Health-seeking behaviour of human brucellosis cases in rural Tanzania.BMC public, n° 315.

LAMARA. M, AMARI. W, GUERFI. S et BAHIA. R, (2020). Evaluation de la fréquence des mammites sub cliniques dans la région Ouest d'Alger par l'utilisation du test California Mastitis Test. Ecole Supérieure Vétérinaire.

LAMONTAGNE, (2002). Microbiologie du lait: Science et technologie du lait: Transformation du lait.VIGNOLA.CL, Ecole polytechnique Montréal, pages:75-128.

LENOIR et VEISSEYRE, (1992). Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Ed: cidil : 30-50.

LOCATELLI.C, SCACCABAROZZI.L, PISONI.G, MANAROLLA.G, CASULA.A, BRONZO.V, MORONI.P, (2011).Short communication: Epidemiology and genotyping

of *Candida rugosa* strains responsible for persistent intramammary infections in dairy cows. *Journal Dairy Science*. 94):4574–4577.

LODE.H, (2010). Safety and tolerability of commonly prescribed oral antibiotics for the treatment of respiratory tract infections; 123: S 26-38.

LOPES.T, FONTOURA.P, OLIVEIRA.A, RIZZO.F, SILVEIRA.S, STRECK.A, (2020). Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis. *Research in Veterinary Science* (131) 186–193.

M'SADAK.Y, MIGHRI.L et KRAIEM.K, (2013). Situation sanitaire mammaire et pertes quantitatives laitières générées par les élévations cellulaires dans des élevages bovins hors sol en Tunisie. *Algerian journal of Arid environment* 3(2): 74-85.

MAALAOUI.A, MAJDOUB.H, TRIMECHE.A, SOUISSI.N, SAIDANI.F, MARNET.P, (2021). Prevalence of bovine mastitis and main risk factors in Tunisia. *Tropical Animal Health and Production* 53: 469.

MALIOWSKI.E et SMULSKI.S (2007). Prévalence et prophylaxie des infections intramammaires et des mammites chez les génisses gestantes. *Życie Weterynaryjne*; 82(6): 476-482.

MANAS.aV, KUMAR. TVS, RAO.TP, KUMAR. AK and SIREESHA.K (2019). Incidence of bovine clinical mastitis caused by *Esherichia coli*. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 8(5): 1249-1256.

MARKEY.B.K, QUINN.P.J, LEONARD.F.C, HARTIGAN.P, FANNING.S, FITZPATRICK.E.S, (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*.

MEKADEMI, (2008). Les résidus d'antibiotiques dans le lait de vache. *Le médicament vétérinaire : Nouvelles approches et impacts sur la santé publique*; 25-26.

MENSAH.S, ABOH.A, SALIFOU.S, MENSAH.G, SANDERS.P, ABIOLA.F et KOUNDADE.O, (2014). Risqué dus aux résidus d'antibiotiques détectés dans le lait de vache produit dans le centre Bénin. *Journal of applied Biosciences* 80: 7102-7112.

MENSAH.S, KOUDANDE.O, SANDERS.P, LAURENTIE.M, MENSAH.G, ABIOLA.F, (2014). Résidus d'antibiotiques et denrées d'origine animale en Afrique : Risques de santé publique. *Rev.sci.tech.off.intEpiz* ; 2014, 33(3) ; 975-986.

MESKINI.Z, RECHIDI-SIDHOUM.N, ZOUAOUI.K, BOUNAAMA.K, HOMRANIA.A, (2021). Infectious aetiologies of subclinical bovine mastitis and antimicrobial susceptibility on northwest of Algeria. *INFECTIOUS AETIOLOGIES OF SUBCLINICAL BOVINE MASTITIS*. 70 (3).311pp.

MICHEL.V, HAUWUY.A, CHAMBA.JF, (2001). La flore microbienne de laits crus de vache : Diversité et influence des conditions de production. *Lait*, (81) 575-592.INRA, EDP Sciences.

MYLLYS. V and RAUTALA. H (1995). Characterization of clinical mastitis in primiparous heifers. *J. Dairy Sci.* 78: 538-545.

NDAHETUYE.JB, PERSSON.Y, NYMAN.A K, TUKEI.M, ONGOL.M P et BAGE.R, (2019). Aetiology and prevalence of subclinical mastitis in dairy herds in peri-urban areas of Kigali in Rwanda. *Tropical Animal Health and Production* 51:2037–2044.

NDIRANGU.P, SIAMBA.D, WESONGA.H, MUNGUBE.E, MAICHOMO.M, MUGAMBI.J, (2017).Prevalence of bovine mastitis and multi-antibiotic resistant *Staphylococcus* and *Streptococcus* species in a research centre farm at Naivasha, KENYA .*Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr.*, 65, 291-303

NICKEL.JS and WHITE.BJ, (2010). Metaphylactic antimicrobial therapy for bovine respiratory disease in stocker and feed lot cattle. *Vet. Clin. N. Am (Food Anin. Pract)*, 26 (2), 285-301.

NOVES.B, LIBRAN.C, LICON.C.C, MOLINA.M.P, MOLINA.A et BERRUGA.M.I, (2015) Technological failures caused by cephalexin in set-type sheep's milk yogurt. *CyTA - Journal of Food*. 13(3): 408–414.

OGOLA.H, SHITANDI.A, NANUA.J, (2007). Effect Mastitis on raw milk compositional quality. *Journal of veterinary science*, 8(3): 237-242.

PASCAL. S (2005). L'antibiorésistance en médecine vétérinaire: enjeux de santé publique et de santé animale, *Bull. Acad. Vét*, Tome 158, N°2, 139-40.

PAVAUX.C, (2001). Splanchnologie des animaux domestiques : fascicule II, appareil uro-génital. Document pédagogique ENVV. 198p.

PHIRI.AM, MULEYA.W and MWAPE.KE (2010). Management of chronic gangrenous mastitis in a 3-year-old cow using partial (quarter) mastectomy. *Aug*; 42(6): 1057-61.

PRESCOTT.J.F, BAGGOT.J.D, WALKER.R.D, (2000). Antimicrobial therapy in veterinary medicine. No.Ed.3 pp.796 pp.

PYORALA.S, (2003). Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research*. 2003; 34(5):565-578.

RABOISSON.D, FERCHIOU.A, PINIOR.B, GAUTIER.T, SANS.P, LHERMIE.G, (2020) The Use of Meta-Analysis for the Measurement of Animal Disease Burden: Losses Due to Clinical Mastitis as an Example. *Frontiers in Veterinary Science*. (7): 149.

RAMIREZ. A, GUTIERREZ. R, DIAZ. G, GONZALEZ. C, PEREZ. N, VEGA. S, NOA. M, (2003) High performance thin-layer chromatography bioautography for multiple antibiotics residues in cow's milk. 784(2): 315-322p.

RATTEZ.C, (2017). Les mammites subcliniques en élevage laitier: Antibiothérapie et Alternative (Thèse).

REMY.D, (2010). Les mammites. Guides France agricole.259pp.

REYBROECK.W, (2010). Screening for residues of antibiotics and chemo therapeutics in milk and honey. Doctorat thesis. Faculteit Diergeneeskunde Universiteit Gent. 295p.

ROLLIN.E, DHUYVETTER.C, OVERTON.M, (2015).The cost of clinical mastitis in the first 30 days of lactation: An economic modeling tool.*Preventive Veterinary Medicine* (122) 257–264.

ROUSSEL.P, DE CREMOUX.R, DAVID.V, (2000). Le CMT ou Test au Teepol : Institut de l'Élevage.

SAGERMAN.A, (2015). Antibiotic resistance mechanisms, problems and solutions - Honors Projects – Paper 416.

SAIDI.R, CANTEKİN.Z, KHELEF.D, ERGÜN.Y,SOLMAZ.H, KAID.R, (2015). Antibiotic Susceptibility and Molecular Identification of Antibiotic Resistance Genes of

Staphylococci Isolated from Bovine Mastitis in Algeria. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 21 (4): 513-520, 2015

SAIDI.R, MIMOUNE. N, BENAÏSSA. MH, BAAZIZI. R, KHELEF. D et KAIDI. R, (2019). Evaluation d'un test de diagnostic rapide des mammites : Speed MAM Color. *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)* 13(2) : 140-152.

SANDERS. P, BOUSQUET-MELOU. A, CHAUVIN. C, et TOUTAIN. P, (2011). Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique. *INRA Productions animales*, 24(2):199-204.

SCHUKKEN.Y, CHUFF.M, MORONI.P, GURJAR.A, SANTISTEBAN.C, WELCOME.F ZADOKS.R, (2012). The "Other" Gram-Negative Bacteria in Mastitis *Klebsiella*, *Serratia*, and More. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 28(2), pp. 239-256.

SEARS. PM, GONZALEZ. RN, WILSON. DJ and HAN. HR (1993). Procedures for mastitis diagnosis and control, *Vet.Clin.North Am.Food Anm.Practice* 9: 445-468.

SEDRATI.T; MENOUEI.M; TENNAH.S; EDGARTHE.P; AZZI.O; CHADI.H; ZERROUKI.H; JEAN-MARC.R; SEYDINA.M,(2020). Molecular Characterization of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Milk of Dairy Cows with Clinical Mastitis in Algeria.1,83(12):2173-2178.

SHARMA.N, SINGH.NK, and BHADWAL.MS (2011). Relationship of Somatic Cell Count and mastitis: An Overview *Asian-Aust.J. Anim.Sci.* 24(3): 429-438.

SHITTU. A, ABDULLAHI. J, JIBRIL. A, MOHAMMED. AA, FASINA. FO (2012). Sub clinica mastitis and associated risk factors on lactating cows in the Savannah Region of Nigeria. *BMC Vet Res*; 8:134.

SORDILLO. LM and STREICHER. KL (2002). Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 7(2):135-146.

SPELLBERRY.B, (2008). Antibiotic resistance and antibiotic development. *L.T.D*; 8(4): 211-212.

STAUB.C, TOUZE.JL, BOUTTIER.A, FRERET.S, GILBERT.FB, DUPONT.M, DELANQUE.M, MOUAZE.C, METIVIER.L, BRIANT.E, RENAUD.G, DUPONT.J et RAINARD.P, (2013). Conséquences des mammites cliniques sur la production laitière. La conductivité électrique du lait et la morphologie des trayons et de la glande mammaire de la vache Holstein. Rencontres autour des recherches sur des ruminants, (20) : 391-394.

TENAILLON.O, SKURNIK.D, PICARD.B et DENAMUR.E, (2010): The population genetics of commensal *Escherichia coli*, 8: 207-217.

UNAKAL C.G. et KALIWAL B.B. (2010). Prevalence and Antibiotic Susceptibility of *Staphylococcus aureus* from Bovine Mastitis. *Veterinary World*, 3, 65-67.

VIGNOLA.C, (2002). Science et technologie du lait : Transformation du lait.(2ème Ed). École polytechnique de Montréal, ISBN (3) 25-29 pp 600.

WATREMEZ.A, (2014). Mammite sèche : 9 fois/10 le quartier est condamné. *PLM*, n° 460, 56-57.

WELLENBERG.G.J, VAN DER POEL.W.H.M, VAN OIRSCHOT.J.T, (2002). Viral infections and bovine mastitis: a review. *Veterinary Microbiology* 88: 27–45.

WILLEY.J, SHERWOOD.L and WOLVERTON. C, (2013). Prescott microbiology, 9th edition, McGraw-Hill, New York; 377- 400.

Annexe II : Tableaux des résultats des antibiogrammes réalisés.

Tableau I : Résultats des antibiogrammes réalisés pour *Staphylococcus aureus*

| | β-Lactamines | | | | Lincos- amides | Sulfamidés | Tetra- cyclines | Macrolides | Quinolones | Aminosides |
|------|---------------------|-----|------|------|---------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| ATB | CXN | PEN | FOX | P | CMN | SXT | TE | ERY | NOR | GMI |
| Echt | 30µg | 6µg | 30µg | 10µg | 2µg | 25µg | 30µg | 15µg | 5µg | 15µg |
| V 10 | 27 S | 6 R | 28 S | 6 R | 27 S | 26 S | 22 S | 26 S | 25 S | 28 S |
| V 15 | 24 S | 6 R | 25 S | 6 R | 27 S | 27 S | 7 R | 29 S | 24 S | 26 S |
| V 19 | 26 S | 6 R | 25 S | 6 R | 29 S | 28 S | 20 S | 30S | 23 S | 27 S |
| V 23 | 26 S | 6 R | 27 S | 6 R | 30 S | 26 S | 8 R | 28 S | 25 S | 26 S |
| V 24 | 32 S | 6 R | 30 S | 6 R | 22 S | 33 S | 30 S | 29 S | 27 S | 34 S |
| V 30 | 34 S | 6 R | 32 S | 6 R | 28 S | 29 S | 22 S | 31 S | 24 S | 25 S |
| V 31 | 29 S | 6 R | 24 S | 6 R | 18 I | 36 S | 29 S | 26 S | 26 S | 35 S |
| V 33 | 25 S | 6 R | 24 S | 6 R | 27 S | 23 S | 29 S | 27 S | 24 S | 26 S |

| | | | | | | | | | | |
|------|------|-----|------|-----|------|------|------|------|------|------|
| V 34 | 27 S | 6 R | 28 S | 6 R | 30 S | 29 S | 30 S | 27 S | 25 S | 25 S |
| V 35 | 32 S | 6 R | 30 S | 6 R | 19 I | 39 S | 30 S | 28 S | 24 S | 25 S |
| V 59 | 30 S | 6 R | 24 S | 6 R | 34 S | 35 S | 29 S | 30 S | 23 S | 27 S |
| V 63 | 35 S | 6 R | 34 S | 6 R | 18 I | 35 S | 27 S | 6 R | 30 S | 36 S |
| V 66 | 39 S | 6 R | 35 S | 6 R | 36 S | 42 S | 27 S | 24 S | 26 S | 40 S |
| V 78 | 26 S | 6 R | 25 S | 6 R | 32 S | 34 S | 26 S | 30 S | 26 S | 26 S |
| V 80 | 32 S | 6 R | 27 S | 6 R | 30 S | 34 S | 29 S | 30 S | 29 S | 25 S |
| D 3 | 33 S | 6 R | 28 S | 6 R | 20 I | 30 S | 28 S | 25 S | 29 S | 26 S |
| D 4 | 32 S | 6 R | 23 S | 6 R | 34 S | 39 S | 30 S | 8 R | 30 S | 31 S |
| D 6 | 27 S | 6 R | 30 S | 6 R | 22 S | 29 S | 26 S | 31 S | 27 S | 25 S |
| D 7 | 33 S | 6 R | 34 S | 6 R | 35 S | 38 S | 29 S | 26 S | 26 S | 39 S |
| D 8 | 30 S | 6 R | 25 S | 6 R | 24 S | 34 S | 30 S | 26 S | 29 S | 25 S |
| D 9 | 30 S | 6 R | 30 S | 6 R | 30 S | 33 S | 30 S | 28 S | 30 S | 25 S |
| D 17 | 29 S | 6 R | 24 S | 6 R | 25 S | 28 S | 27 S | 27 S | 26 S | 26 S |
| D 18 | 27 S | 6 R | 25 S | 6 R | 32 S | 33 S | 27 S | 26 S | 29 S | 29 S |

| | | | | | | | | | | |
|------|------|-----|------|-----|------|------|------|------|------|------|
| D 22 | 34 S | 6 R | 32 S | 6 R | 27 S | 29 S | 31 S | 30 S | 27 S | 29 S |
| D 24 | 32 S | 6 R | 30 S | 6 R | 23 S | 25 S | 26 S | 31 S | 28 S | 28 S |
| D 26 | 20 S | 6 R | 24 S | 6 R | 6 R | 6 R | 6 R | 15 R | 28 S | 23 S |
| D 55 | 27 S | 6 R | 23 S | 6 R | 32 S | 34 S | 28 S | 30 S | 26 S | 25 S |
| D 59 | 30 S | 6 R | 29 S | 6 R | 34 S | 31 S | 27 S | 34 S | 23 S | 31 S |
| D 60 | 33 S | 6 R | 23 S | 6 R | 27 S | 26 S | 30 S | 29 S | 28 S | 30 S |

CXN : Céfalexine ; **NOR** : Norfloxacin ; **PEN** : Pénicilline ; **GMI** : Gentamicine ; **ERY** : Erythromycine ; **CMN** : Clindamycine ; **SXT** : Triméthoprim + Sulfaméthoxazole ; **P** : Pénicilline G ; **FOX** : Céfoxitine ; **TE** : Tétracycline.

R: Résistant ; I: Intermédiaire ; S: Sensible

TableauII : Résultats des antibiogrammes réalisés pour *Escherichia coli*

| ATB | β Lactamines | | | | | | Sulf-amidés | | Aminosides | | Tétra-cyclines | Poly-peptides | Phéni-colés | Quino-lones | AcidePhos-poni-que | Diamino-pyrimidines |
|------|---------------------|------|------|------|------|------|--------------------|-------|-------------------|-----------|-----------------------|----------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|----------------------------|
| | AMX | AMC | ETP | CF | AMP | CTX | SXT | SS | NEO | GM | TE | COL | C | UBN | FSF | TMP |
| Echt | 25μg | 10μg | 10μg | 30μg | 10μg | 30μg | 25μg | 200μg | 30μg | I 15μg | 30μg | 10μg | 30μg | 30μg | 50μg | 5μg |
| V12 | 10 R | 18 S | 30 S | 25 S | 20 S | 30 S | 20 S | 28 S | 32 S | 28 S | 10 R | 25 S | 26 S | 34 S | 20 S | 30 S |
| V13 | 11 R | 19 S | 30 S | 25 S | 19 S | 33 S | 22 S | 25 S | 34 S | 25 S | 30 S | 20 S | 24 S | 30 S | 19 S | 23 S |
| V33 | 10 R | 18 S | 32 S | 22 S | 20 S | 38 S | 30 S | 21 S | 28 S | 32 S | 22 S | 17 I | 30 S | 35 S | 23 S | 20 S |
| V34 | 12 R | 15 I | 28 S | 23 S | 7 R | 32 S | 28 S | 25 S | 27 S | 30 S | 27 S | 18 S | 32 S | 29 S | 22 S | 26 S |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------|------|------|---------|---------|------|---------|------|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| V67 | 12 R | 17 I | 30 S | 30 S | 17 S | 29 S | 28 S | 30 S | 30 S | 29 S | 26 S | 22 S | 33 S | 28 S | 26 S | 29 S |
| D10 | 20 S | 19 S | 29 S | 10 R | 10 R | 38 S | 32 S | 29 S | 32 S | 29 S | 24 S | 24 S | 26 S | 33 S | 20 S | 20 S |
| D18 | 10 R | 20 S | 32 S | 30 S | 6 R | 38 S | 32 S | 27 S | 27 S | 30 S | 32 S | 16 I | 36 S | 34 S | 20 S | 25 S |
| D19 | 9 R | 20 S | 33 S | 27 S | 8 R | 39 S | 29 S | 28 S | 26 S | 31 S | 33 S | 24 S | 28 S | 36 S | 29 S | 28 S |
| D30 | 10R | 21 S | 30 S | 27 S | 10 R | 37 S | 31 S | 30 S | 27 S | 30 S | 29 S | 28 S | 21 S | 38 S | 28 S | 27 S |
| D 32 | 12 R | 16 I | 34 S | 8 R | 12 R | 40 S | 22 S | 22 S | 32 S | 30 S | 8 R | 27 S | 32 S | 40 S | 21 S | 26 S |
| D51 | 18 R | 17 I | 29 S | 25 S | 11 R | 37 S | 24 S | 30 S | 24 S | 27 S | 30 S | 29 S | 34 S | 32 S | 17 S | 30 S |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| D59 | 10 R | 19 S | 31 S | 24 S | 10 R | 29 S | 28 S | 26 S | 30 S | 28 S | 28 S | 24 S | 27 S | 27 S | 20 S | 29 S |
|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|

AMX : Amoxicilline ; **AMC** : Amoxicilline+Acide clavunaliq ; **ETP** :Ertapénème ; **CF** : Céfaloine ; **AMP** : Ampicilline ; **CTX** : Céfotaxime, **COL** : Colistine ; **NEO** : Néomycine ; **SXT** : Triméthoprime + Sulfaméthoxazole ; **GMI** : Gentamicine ; **TE** : Tétracycline ; **SSS** : Sulfonamide ; **CHL** ; Chloramphénicole ; **UBN**: Fluméquine ; **FSF** : Fosfomycine ; **TMP** : Triméthoprime.

R: Résistant ; I: Intermédiaire ; S: Sensible

Tableau III : Résultats des antibiogrammes réalisés pour *Providencia*

| ATB | AMC | AMP | MAR | GMI | NEO | CHL | ENR | CF | CAZ | FUR | CTX | UBN | F | FEP | COL | TE |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|------|------|
| | 10µg | 10µg | 5µg | 10µg | 30µg | 30µg | 5µg | 30µg | 30µg | 30µg | 30µg | 30µg | 300µg | 30µg | 10µg | 30µg |
| Echt | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V 33 | 11 R | 6 R | 28 S | 24 S | 26 S | 24 S | 26 S | 6 R | 27 S | 26 S | 27 S | 19 S | 6 R | 36 S | 16 I | 22 S |
| V 39 | 19 S | 12 R | 25 S | 25 S | 23 S | 36 S | 24 S | 12 R | 27 S | 24 S | 34 S | 34 S | 11 R | 28 S | 12 S | 23 S |

R: Résistant ; I: Intermédiaire ; S: Sensible

TableauIV : Résultats des antibiogrammes réalisés pour *Streptococcus*

| ATB Echt | AMP 10µg | PEN 6µg | TE 30µg | VAN 30µg | ENR 5µg | ERY 15µg | SXT 25µg | STR 10µg | LCN 15µg | TIL 15µg |
|-------------|-------------|------------|------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| V33 | 20 R | 20 R | 10 R | 18 S | 27 S | 22 S | 26 S | 6 R | 9 R | 14 I |
| V 35 | 19 R | 21 R | 10 R | 19 S | 24 S | 20 I | 26 S | 6 R | 10 R | 14 I |
| V70 | 21 R | 21 R | 15 R | 20 S | 26 S | 25 S | 28 S | 6 R | 10 R | 10 R |
| V72 | 19 R | 16 R | 9 R | 21 S | 26 S | 25 S | 22 S | 6 R | 10 R | 16 S |
| D18 | 27 S | 23 R | 16 R | 19 S | 25 S | 19 I | 24 S | 6 R | 11 R | 15 S |

AMP: Ampicilline ; **PEN**: Pénicilline ; **TE** : Tétracycline ; **VAN** : Vancomycine ; **ENR** : Enrofloxacine ; **ERY** : Erythromycine ; **SXT** : Triméthoprime + Sulfaméthoxazole ; **STR** : Streptomycine ; **LCN** : Lincomycine ; **TIL** : Tilmicosine.

R: Résistant ; I: Intermédiaire ; S: Sensible

Annexe III : Composition des milieux de culture

Milieu Chapman

Pour un litre d'eau distillée :

| Composants | Quantités |
|-----------------|-----------|
| Mannitol | 10 g |
| Peptone animale | 11 g |
| NaCl | 75 g |
| Rouge de phénol | 25 mg |
| Agar | 9-18 g |
| pH final | 6,8 |

Milieu Hektoen

Pour un litre d'eau distillée :

| Composants | Quantités |
|-----------------------------|-----------|
| Lactose | 12 g |
| Saccharose | 12 g |
| Protéose-peptone | 12 g |
| Extrait de levure | 3 g |
| Désoxycholate de sodium | 9 g |
| Salicine | 2 g |
| Bleu de bromothymol | 65 mg |
| Fuscine acide | 100 mg |
| Thiosulfate de sodium | 5 g |
| Citrate ferrique ammoniacal | 1,5 g |
| Chlorure de sodium | 5 g |
| Agar | 15 g |
| pH final | 7,5 |

Milieu KF

Pour un litre d'eau distillée :

| Composants | Quantités |
|----------------------------|-----------|
| Maltose | 20 g |
| Lactose | 1 g |
| Peptone | 10 g |
| Extrait de levure | 10 g |
| Glycérophosphate de sodium | 10 g |
| Chloride de sodium | 5 g |
| Azide de sodium | 0,4 g |
| Agar | 20 g |
| pH final | 7,2 |