*République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère*
*de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*
**Université A. MIRA - Bejaia**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**
**Département de Microbiologie**
**Filière : Sciences biologiques**
**Option : Microbiologie en secteur biomédicale et vétérinaire**

**Réf : ……..**

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

# MASTER

# *Thème*

## Prévalence et sensibilité des souches de Staphylococcus aureus isolées de mammites subcliniques et chez les animaux d'élevage

Présenté par : M$^{elle}$ ***DERGUINI Assia***
M$^{elle}$ ***IDIR* Hanane**

Soutenu le : **17 JUIN 2017**

Devant le jury composé de :

| | | |
|---|---|---|
| Mme. Keramane .B | MAA | Présidente |
| Pr. Touati.A | Professeur | Encadreur |
| Mme. Mezhoud. H | MAA | Examinatrice |

**Année universitaire : 2016/2017**

*République Algérienne Démocratique et populaire*
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*
**Université A. MIRA – Béjaia**

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**
**Département de Microbiologie**
**Filière : Sciences Biologiques**
**Option : Microbiologie en Secteur Biomédical et Vétérinaire**

**Réf :…….**

**Mémoire de Fin de Cycle**
En vue de l'obtention du diplôme

# MASTER

## *Thème*

# Etude du portage des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline chez les animaux d'élevage

Présenté par : ***IDIR Hanane***

Soutenu le : 17 Juin 2017

Devant le jury composé de :

| | | |
|---|---|---|
| Mme. KERAMANE B. | M.A.A | Présidente |
| Pr. TOUATI A. | Professeur | Encadreur |
| Mme. MEZHOUD H. | M.A.A | Examinatrice |

**Année universitaire : 2016/2017**

# Remerciements

A Monsieur le Pr. TOUATI A., pour la qualité exceptionnelle de son encadrement et pour m'avoir initiée à la recherche scientifique et au monde bactérien, en témoignage de mon profond respect, ma gratitude et toute ma considération. Je retiendrai de vous votre humilité, professionnalisme, implication et rigueur.

A notre précieuse co-promotrice, M$^{elle}$ MAIRI A., pour sa présence, sa patience et ses encouragements, en témoignage de ma reconnaissance et de mon estime pour elle.

Aux membres du jury qui nous font l'honneur d'évaluer ce travail et pour tout l'intérêt qu'elles ont bien voulu lui porter, hommages respectueux.

Je tiens aussi à remercier particulièrement :

Le Dr. ZAREB Y. pour sa disponibilité, ses conseils et toute son aide,

Mr l'Inspecteur de wilaya, le Dr. IDRES I. pour toutes ses orientations et sa collaboration,

Le Dr. BOUYAHIA N. et le Dr. KHEMSINE A. pour leur aimable participation dans la réalisation d'une partie des prélèvements,

Soyez assurés de ma sincère reconnaissance.

A Mr. ADRAR S. et Mr. BOUZID pour avoir accepter de nous accueillir dans leurs établissements, sincères remerciements.

A tous les éleveurs qui ont eu la gentillesse de nous recevoir dans leurs foyers et leurs élevages, un grand merci pour leur collaboration.

***Dédicaces***

*A mes parents,*

*Ma famille,*

*Mes amis,*

*Et toute l'équipe du ptit labo.*

*Hanane*

# Table des matières

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction** ..... 1

**Synthèse bibliographique**

I.Caractéristiques générales et importance clinique de *S. aureus* ..... 3

I.1. Taxonomie ..... 3

I.2. Caractères bactériologiques ..... 3

I.2.1. Morphologie ..... 3

I.2.2. Principaux caractères culturaux et biochimiques ..... 3

I.3. Habitat et réservoirs : ..... 4

I.4. Facteurs de virulences et physiopathogénie ..... 5

I.5. Pouvoir pathogène de *S. aureus* chez l'animal ..... 6

I.6. Risques liés à *S. aureus* dans les élevages ..... 7

I.6.1. Sources et réservoirs dans les élevages ..... 7

I.6.2. Modes et voies de transmission ..... 8

II. Résistance aux antibiotiques chez *S. aureus* : ..... 9

II.1. Définition de l'antibiotique : ..... 9

II.2. Résistance bactérienne aux antibiotiques ..... 9

II.3. Histoire du SARM ..... 9

II.4. SARM dans les élevages, les enjeux ..... 11

**Matériel et méthodes**

1. Prélèvements ..... 13

2. Isolement ..... 13

3. Identification des souches isolées ..... 13

- Coloration de Gram ..... 14
- Recherche de la catalase ..... 14
- Recherche de la DNase ..... 14

4. Conservation des souches ..... 14

5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques ..... 14

6. Evaluation de la consommation d'antibiotiques en médecine vétérinaire à Béjaia ..... 15

**Résultats**

1. Population d'animaux étudiée ..... 16
2. Nombre de souches SARM isolées ..... 16
3. Sensibilité aux antibiotiques ..... 17
4. Evolution de la vente des antibiotiques en médecine vétérinaire dans la région de Béjaia .... 18
**Discussion et conclusion** ..... 20
**Références bibliographiques**

# Liste des abréviations

**CIP :** Ciprofloxacine

**DA :** Clindamycine

**DNase :** Désoxyribonucléase

**Eap :**Extra cellular adherence protein

**Efp :**Extra cellular fibrinogen binding protein

**Emp :**Extra cellular matrix binding protein

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

**GC :** Bouillon Giolitti Cantoni

**LPV :**Leucocidine de Panton Valentine

**MSCRAMM :**Microbial Surface Component RecognizingAdhesive Matrix Molecule

**PLP :** Protéines liant la Pénicilline

**RA :** Rifampicine

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

**SARM-C :** SARM communautaire

**SARM-H :** SARM hospitalier

**SARM-L :** SARM d'élevage

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

**SCC*mec* :**Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*

**SERAM :** SecretableExpendedRepertoire Adhésive Molecules

**SPA :**Staphylococcalprotein A

**ST :** Séquence Type

**TOB :**Tobramycine

**TSB :**Trypticase Soja Bouillon

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

**VA :**Vancomycine

**SCIN :**Staphylococcal Complement Inhibitor

**CHIPS :**Chimiotaxis inhibitory protein of Staphylococci

## Liste des figures

**Figure 01 :** Quantité d'antibiotiques vendue à Béjaia entre 2014 et 2015

**Figure 02 :** Evolution de la quantité d'antibiotique vendue dans la wilaya de Béjaia entre 2014 et 2016

## Liste des tableaux

**Tableau I :** Infections les plus fréquemment rencontrées chez les animaux

**Tableau II :** Charge des disques d'antibiotiques testés et leurs diamètres critiques

**Tableau III :** Lieu et nombre d'animaux prélevés par espèce

**Tableau IV :** Résultats des tests d'identification des souches présomptives de *S. aureus*

**Tableau V :** Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques pour les souches de SARM

Les antibiotiques sont une classe thérapeutique très préconisée tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire, ils sont essentiellement utilisés dans le traitement et la prévention de nombreuses maladies infectieuses d'origine bactérienne. De nombreux travaux ont rapporté l'impact direct de l'usage des antibiotiques sur les bactéries résistantes, ceux-ci créent une pression de sélection favorable à leur développement au sein de la population bactérienne (Madec, 2013).

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

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

*Staphylococcus aureus* est à la fois une bactérie commensale et un pathogène important des mammifères. Il peut être à l'origine d'infections très diverses allant des infections cutanées, des toxi-infections alimentaires, des mammites mais aussi des affections très graves pouvant engager le pronostic vital de l'individu comme la pneumonie, l'endocardite et le syndrome du choc toxique (Benito et *al.*, 2015). Cela est d'autant plus probable si des souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) sont en cause. En effet, celle-ci sont résistants à toutes les pénicillines disponibles et autres β-lactamines et présentent généralement une multirésistance ne laissant parfois que d'infimes possibilités thérapeutiques (Becker et *al.*, 2015). Le SARM est l'une des bactéries multi-résistantes les plus redoutées du 21$^{ème}$ siècle et pour cause, sa capacité et sa rapidité à développer des résistances aux

antibiotiques. Ce caractère vient orner toute une liste de facteurs de virulences (Petinaki et Spiliopoulou, 2012).

L'épidémiologie de SARM a beaucoup évolué au fil du temps. Les premières souches SARM ont été décrites dans les structures hospitalières (SARM-H), puis elles ont été signalées en communauté (SARM-C). De nos jours ce sont les souches de SARM d'origine animale, notamment celles associées aux animaux d'élevages (Livestock : SARM-L) qui intriguent la communauté scientifique et les professionnels de la santé. Notamment, depuis que leurs potentiel zoonotique a été avéré (Verkade et Kluytmans, 2013 ; Petinaki et Spiliopoulou, 2012 ; Benito et *al.*, 2015).

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

La présente étude a pour objectif :

- Estimation de la prévalence de SARM chez quelques animaux d'élevage à Béjaia.
- Etude la sensibilité des souches de SARM isolées à différentes classes d'antibiotiques.

# I. Caractéristiques générales et importance clinique de *S. aureus*

## I.1. Taxonomie

*Staphylococcus aureus* est un micro-organisme procaryote. Il est classé dans le règne *Bacteria* puis dans l'embranchement *Firmicutes*, classe *Bacilli* puis dans l'ordre *Bacilliales*. Sur la base de la séquence génétique codant l'acide ribonucléique de la sous-unité 16S (ARNr 16S), sa position taxonomique a été revue et l'espèce *S. aureus* est depuis 2002 classée avec d'autres espèces composant le genre *Staphylococcus* dans une famille qui porte son nom : *Staphylococcaceae.* Cette dernière comprend en plus de celui-ci, les genres : *Gemella*, *Macrococcus*, *Jeotgalicoccus*et*Salinococcus*(Le Loir et Gautier, 2010).

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

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

## I.2. Caractères bactériologiques

### I.2.1. Morphologie

*S. aureus* est uncocci à Gram-positif. Son diamètre moyen est d'environ 0,5 à 1µm. Il est immobile, non sporulé et souvent encapsulé. Il se divise de façon caractéristique selon plusieurs plans et s'organise-le plus souvent en amas ayant la forme d'une grappe (leur nom vient d'ailleurs du grec « staphylo » qui signifie grappe de raisin) mais peut aussi se trouver isolé ou groupé par deux (diplocoque) ou par quatre (tétrade) (Vos et *al.*, 2009).

### I.2.2. Principaux caractères culturaux et biochimiques

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

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

Quatre éléments sont recherchés en routine pour une identification rapide :

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

## I.3. Habitat et réservoirs

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

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

*S. aureus* est l'un des principaux agents de toxi-infections alimentaires chez l'Homme (Le Loir et *al.*, 2003). Il peut se retrouver dans les aliments comme, le lait, les produits laitiers ou la viande. Cela peut être du à une contamination primaire de la matière première d'origine animale révélant ainsi un potentiel zoonotique de la bactérie. La contamination secondaire a lieu principalement au cours de la fabrication et/ou le conditionnement de l'aliment dans l'industrie agro-alimentaire dans ce cas la matière première peut être saine au départ. Ces contaminations sont souvent liées à un défaut d'hygiène du matériel de production ou parfois meme du personnel (Gultiérrez et *al.*, 2012).

## I.4. Facteurs de virulences et physiopathogénie

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

Pour ce faire, *S. aureus* dispose de tout un arsenal de facteurs de virulence principalement représentés par : différents constituants de la paroi, des protéines de surface et plusieurs autres protéines sécrétées. Les différents facteurs de virulence de *S. aureus* vont intervenir à différents stades au cours de l'infection afin de contourner les défenses de son hôte. La diversité des facteurs de virulence chez *S. aureus* explique le polymorphysme clinique des infections qu'il engendre (Harraghy et *al.*, 2003 ; Novick et *al.*, 2003).

Les MSCRAMM (Microbial Surface Component RecognizingAdhesive Matrix Molecule) sont un ensemble de protéines assurant l'adhésion aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire. Ce sont une famille de protéines fixées au peptidoglycane. D'autres éléments associés à la paroi, comme le peptidoglycane, aurait en plus une activité similaire aux endotoxines. Les acides teichoiques et lipoteichoiques servent de molécules d'ancrage à certaines adhésines et jouent donc aussi un rôle dans l'adhésion (Lowy, 1998). Une autre famille d'adhésines décrites est celle des SERAM (secretableexpendedrepertoire adhésive molecules) dites les nouvelles adhésines. Celles-ci sont produites dans le milieu extérieur et sont représentées par la protéine Eap (extra cellular adherenceprotein), la protéine Emp (extra cellular matrix bindingprotein), la protéine Efp (extra cellular fibrinogenbindingprotein) ainsi que la coagulase (Heilmann, 2011).

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

L'extension locale se fait grâce à la dégradation de la matrice tissulaire par un ensemble d'enzymes et la diffusion hématogène est assurée par la coagulase et la staphylokinase. La première assure la formation de microthrombi septique et l'action de la seconde conduit à la fragmentation de

ces derniers et la dislocation des métastases septiques (Denges et *al.,* 2000 ; Lowy, 1998). La multiplication et l'invasion impliquent la mise en jeux d'un ensemble de facteurs d'échappement aux défenses de l'hôte et de destruction des cellules et des tissus de l'hôte (Lin et *al.,* 2010). Ils sont représentés par l'ensemble des facteurs sécrétés : les exotoxines. Ellessont classées en quatre groupes : les toxines à activité super-antigénique (entérotoxines, TSST-1) cytolytique (cytolysines et leucocidines), divers enzymes (lipases, nucléases, protéases, hyaluronidase, staphylokinase) et des protéines comme StaphylococcalComplementInhibitor (SCIN) etChimiotaxisinhibitoryprotein of Staphylococci (CHIPS) (Foster, 2005). De plus, *S. aureus* possède une grande capacité à acquérir des résistances aux antibiotiques (Watkins et *al.*,2012). Cet atout majeur fait la réputation des ses souches résistantes à la méthicilline considérées comme des pathogènes redoutables.

## I.5. Pouvoir pathogène de *S. aureus* chez l'animal

Le pouvoir d'adaptation exceptionnel de *S. aureus* lui a permis de conquérir sans cesse de nouveaux hôtes. Cette capacité à passer d'une espèce à l'autre a été confirmée par Shepheard et *al.,* en 2013 confortant ainsi l'hypothèse de Sakwinska et *al.,* deux ans auparavant. Ainsi, la plus part des souches de *S. aureus* isolées chez les animaux d'élevages seraient d'origine humaine. Ces échanges semblent plus fréquents que chez certaines espèces que d'autres. Ainsi, ils semblent moins fréquent entre chiens-chats (Sasaki et *al.,* 2012) et entre volaille-Homme (Rodgers et *al.,* 1999) qu'entre Homme-bovin (Sakwinska et *al.,* 2011).

Ce passage d'une espèce d'hôte à une autre serait accompagné d'une adaptation des souches à leur nouvel hôte et une certaine perte de tropisme pour leur hôte d'origine rendant ainsi leur réversion plus difficile. Dans certains cas ces passages peuvent parfois atténuer la virulence chez l'hôte d'origine. Toutefois, l'adaptation à un nouvel hôte implique le développement et l'expression de facteurs de virulence adéquats qui permettront à la bactérie de s'installer et dès que les conditions le permettent de provoquer des problèmes de santé chez ce dernier (Peton et le Loir, 2013).

Chez les animaux comme chez l'homme le pouvoir pathogène de *S. aureus* est bien avéré et le gros des infections causées par *S. aureus* est représenté par des atteintes cutanées. Les dermatites suppuratives superficielles ou profondes sont souvent signalées chez de nombreuses espèces d'animaux. Les mammites sont la seconde forme clinique des infections à *S. aureus* rencontrée notamment chez les animaux d'élevages (Foster et *al.,* 2012). Le tableau I résume les infections les plus fréquemment rencontrées chez les animaux.

**Tableau I :** Infections les plus fréquemment rencontrées chez les animaux (Peton et le Loir, 2013). modifié

| Espèce | Hôte | Infection |
|---|---|---|
| *S. aureus* subsp. *aureus* | Bovin | Mammite, impetigo |
| | Mouton | Mammite, Dermatite, légères folliculites |
| | Chèvre | Botryomycosemammaire |
| | Porc | Mammite, plaies de castration |
| | Cheval | Dermatite, infections du tractus urinaire et des abcès |
| | Chien/chat | Dermatite, abcès (rare) |
| | Oiseaux, | Arthrites, septicémies |
| *S. aureus* subsp. *anaerobius* | Mouton | Lymphadenites, abcès |
| | Chat | Cystite et suppurations |

D'autres manifestations pathologiques plus rares liées à *S. aureus* ont été décrites à savoir : des infections de la sphère ORL chez les chiens et les chats (otites et infections des voies aériennes supérieures), des infections du tractus urinaires et des cystites, des métrites (notamment chez la vache et la chienne), des abcès d'organes internes, des péritonites, des pleurésies, des ostéomyélites ou endocardites ou encore des arthrites notamment chez la volaille (Peton et Le Loir, 2013). Contrairement à l'Homme, les animaux semblent moins sensibles aux entérotoxines staphylococciques puisque dans les conditions naturelles on ne connait pas de toxi-infection chez les animaux domestiques.

## I.6. Risques liés à *S. aureus*dans les élevages

### I.6.1. Sources et réservoirs dans les élevages

Etant donnée sa nature ubiquitaire l'infection par ce germe peu avoir une origine endogène ou exogène. Plusieurs sources de la bactérie peuvent ainsi être envisagées dans les élevages. La principale étant représentée par les animaux eux-mêmes (portage et infections sub-cliniques) et les sources secondaires sont représentées par : le bâtiment d'élevage, la litière, l'aliment, l'air, les insectes, les équipements mais aussi les autres animaux présents dans la ferme (Bergonnier et *al.*, 2003 ; Peton et Le Loir, 2013).

Les mains et la flore nasale des ouvriers, éleveurs et vétérinaires sont aussi une source considérable (Capurro et *al.*, 2010).

Les principaux réservoirs des staphylocoques dans les élevages sont représentés par les porteurs sains et les individus souffrant d'infections sub-cliniques, d'infections inflammatoires chroniques et d'infections cutanées au niveau des trayons. Ces dernières sont des lésions principalement initiées par des traumatismes ou des virus (ecthyma contagieux).

## I.6.2. Modes et voies de transmission

La transmission entre animaux s'effectue sur un mode horizontale. Le contact direct entre animaux malades ou sains et animaux sensibles, immunodéprimés ou affaiblis notamment lors de la tétée (en cas de mammite). En effet, les petits laissés sous leurs mères peuvent en plus servir de vecteur pour la bactérie entre les femelles allaitantes. La contamination peut aussi se faire de façon indirecte à partir d'objets inanimés, d'eau et d'aliments ou de matériel souillés. *S. aureus* est un germe résistant qui peut survivre plusieurs semaines voire des mois dans le milieu extérieur (Licois, 2010 ; Foster, 2012).

Outre les différentes origines qui expliquent la présence inévitable de *S. aureus* dans les exploitations, la persistance des infections provoquées par ces germes est imputable à la mauvaise gestion des épisodes d'infectieux. Une fois déclarées la gestion d'un tel risque passe inéluctablement par une prise en charge précoce des animaux malades, de plus l'apparition de problèmes de santé dans les élevages est souvent une conséquence multifactorielle. En effet, des défaillances dans les paramètres zootechniques et la mauvaise gestion de l'élevage sont très souvent incriminées. Il importe donc dans la prise en charge des cas cliniques de faire une enquête approfondie concernant la gestion de l'élevage, d'évaluer et d'apporter les mesures correctives au programme prophylactique en place ou d'en instaurer un le cas échéant (Peton et Le Loir, 2013 ; Foster, 2012).

# II. Résistance aux antibiotiques chez *S. aureus*

## II.1. Définition de l'antibiotique

Stricto sensu, ce terme utilisé pour la première fois en 1889 en référence à une substance produite par un organisme visant à détruire un autre, désigne une substance antimicrobienne naturelle (Muylaert et Mainil, 2012). Son emploi pour désigner des substances synthétiques comme les sulfamides et les quinolones ou semi-synthétiques comme l'amoxicilline et l'amikacine est par conséquent inappropriés. Toutefois de nos jours, lato sensu, ce terme est celui employé pour désigner une substance naturelle (produites par des bactéries et des champignons), synthétique ou semi-synthétique ayant la propriété de tuer ou d'empêcher la prolifération de bactéries.

Il existe de nombreuses molécules antibiotiques mais on peut les regrouper selon leur cible en cinq grands groupes : les antibiotiques qui agissent sur la paroi, les membranes, la synthèse des protéines, la synthèse des acides nucléiques et enfin certains antibiotiques agissent sur le métabolisme intermédiaire.

## II.2. Résistance bactérienne aux antibiotiques

Une bactérie est dite résistante à un antibiotique lorsque celle-ci se cultive en présence de concentrations supérieures à celle qu'il est possible d'atteindre *in vivo* ou bien celle qui est capable d'inhiber le développement de la majorité des souches de la même espèce. Sur le plan clinique ceci se traduit par un échec thérapeutique (Guillot, 1989 : Martinez, 2014).

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise. Cette dernière est soit dû à des mutations spontanées dans le chromosome bactérien, soit à l'acquisition de matériel génétique exogène. Ces gènes de résistance sont acquis par transfert horizontal entre bactéries ou à partir de l'environnement (Cohn et Middleton, 2010). *S. aureus* est connu pour son potentiel exceptionnel pour l'acquisition sans cesse de multiples gènes de résistance (Petinaki et Spiliopoulou, 2012).

## II.3. Histoire du SARM

L'émergence du SARM initialement décrit dans les structures hospitalières remonte aux années 60 mais la multirésistance chez *S. aureus* est bien plus ancienne. Tout commence dans les années 40, soit quelques années après l'introduction de la pénicilline dans le traitement des maladies infectieuses d'origine bactérienne. Les premiers isolats de *S. aureus* résistant à cette molécule ont été signalés en 1942 par Rammelkamp et Maxon aux USA (Sa Figueirido et Ferreira., 2014).

En 1946, 60% des isolats cliniques étaient résistants à la pénicilline (Lyon et Curray, 1987). La tendance n'allait pas en s'arrangeant puisqu'au au début des années 60, Jessen et al, dans une publication de 1969 déclaraient que 80% des isolats cliniques de *S. aureus* étaient producteurs de ß-lactamases (Sa Figueirido et Ferreira., 2014). Pour palier à cette résistance bactérienne dont on comprenait très peu, d'autres molécules ont été utilisées (streptomycine, tétracycline, macrolides et chloramphénicol). Seulement, là encore il a suffit de quelques années pour que des souches résistantes à ces molécules commencent à apparaitre, plus grave encore dès le début des années 50 certaines de ses souches présentaient des résistances à plusieurs classes d'antibiotiques simultanément, c'est la multirésistance. Ainsi, en 1959 plus de 40% des isolats clinques de *S. aureus* aux Etats-Unis présentaient au moins une résistance à quatre antibiotiques. Les échecs thérapeutiques à répétition ont motivé le développement de nouvelles molécules semi-synthétiques telles que la méthicilline et l'oxacilline dont le noyau ß-lactame résiste à l'action des ß-lactamases (pénicillinases) (Lyon et Skurray, 1987).

Même si les premiers isolats cliniques résistants à la méthicilline ont été décrits par Jevons dès 1961 au Royaume-Uni cela n'a pas trop affecté l'efficacité de ces molécules en ce temps là. Ce n'est que vers la fin des années 60, début des années 70 que des fréquences de plus en plus importantes de souches de SARM commencent à être rapportées dans de nombreux pays (Lyon et Skurray, 1987). Ces souches dont la prépondérance devenait de plus en plus inquiétante au sein de la population bactérienne présentaient une co-résistance. En effet, la plus part d'entre elles étaient productrices de ß-lactamase, résistante à la streptomycine, les sulfamides et les tétracyclines. Plusieurs souches présentaient en plus une résistance vis-à-vis du chloramphénicol, streptomycine, acide fusidique et aminoglycosides dont l'apparition de la résistance était un peu plus tardive, soit environ 10 ans après leurs premières utilisations (Lyon et Skurray, 1987).

A la fin des années 70 et au début des années 80, le SARM multirésistant était déjà responsable d'infections nosocomiales majeures dans de nombreux pays et parfois même à l'origine d'épidémies dans les hôpitaux (Lyon et Skurray, 1987).

Les souches SARM ont été initialement décrites dans les structures hospitalières où elles étaient à l'origine d'infections acquises à l'hôpital (SARM-H). Mais vers la fin des années 70, début des années 80, des souches SARM d'origine communautaire (SARM-C) commencent à être signalées notamment en Australie chez des individus sans antécédents d'hospitalisation. De plus, les souches SARM-C présentaient quelques distinctions vis-à-vis de leurs homologues SARM-H. Contrairement à ces dernières, les SARM-C présentaient une multi-sensibilité aux autres classes d'antibiotiques et

étaient pour certaines particulièrement plus virulentes pouvant occasionner des pneumonies nécrosantes associées à un taux de mortalité élevé (Watkins et *al.*, 2012 ; Smith et Wardyn., 2015).

Depuis le début des années 2000, le SARM-C est devenu endémique, rapporté dans de nombreux pays à travers le monde. Les infections à SARM n'étaient plus réservées à l'hôpital mais répondues en communauté et touchant des sujets immunocompétents. De plus, le SARM-C était également à l'origine d'infections nosocomiales et leur transmission de l'Homme à l'animal et vise-versa était aussi fort probable. Mais, le début du XXI$^{ème}$ restera probablement plus marqué par l'émergence de SARM d'origine animale (SARM-L) (Sa Figueirido et Ferreira., 2014). Depuis qu'il a été isolé pour la première fois en 2003 chez des éleveurs de porc, plusieurs souches ont été décrites par la suite dans de nombreux pays Européens, en Amérique du Nord et l'Extrême Orient chez des bovins, poulets, chiens et des rats. Ses dernières sont venues changer encore une fois toute l'épidémiologie des infections à SARM (Foster, 2012).

## II.4. SARM dans les élevages, les enjeux

Dans les années 2000, l'inquiétude vis-à-vis des souches SARM-L ne tenait pas qu'à leur prévalence en tant que pathogènes chez l'Homme (où elle était encore faible) et les animaux mais plus à leur propagation dans la communauté. En effet, ces flux entre espèces confirme le caractère non spécifique d'hôte de la bactérie ce qui facilite d'avantage sa dissémination (Foster, 2012).

De nos jours, le SARM n'est plus considéré comme un agent pathogène strictement lié aux structures hospitalières mais plutôt vu comme une cause majeure d'infections graves dans la communauté notamment chez l'Homme et les animaux (Stefani et *al.*, 2012).

Les mammites dans les élevages laitiers (Bovins, Ovins, Caprins) et cunicoles, les pododermatites chez la volaille sont les pathologies à *Staphylococcus aureus* dont les retombées économiques sont les plus conséquentes. Les pertes indirectes sont liées à la chute de productivité et les coûts supplémentaires liés notamment aux soins. Les pertes directes sont quant à elle liés dans les cas les plus graves à la mortalité mais aussi aux pertes de lait impropre à la consommation et un déclassement voir des saisies de carcasses et de sous-produits à l'abattoir (Peton et le Loir, 2013).

Les toxi-infections alimentaires provoquées par l'entérotoxine staphylococcique thermostable préformés dans les denrées alimentaires d'origine animale étaient la seule implication conséquente de *S. aureus* d'origine animale en pathologie humaine. Actuellement, même si les souches de SARM ne semblent pas spécialement plus virulentes que leurs homologues sensibles à la méthicilline, leurs potentiel zoonotique est couvert d'une attention très particulière. Et pour cause, l'amenuisement des ressources thérapeutiques encore disponibles et efficaces contre ces souches. De plus, dans une récente

étude, des souches de SARM-L possédant des facteurs de virulence très importants en pathologies humaines, la leucocidine de Panton-Valentine (PVL) et la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) ont été isolées dans les narines de moutons sains (Gharsa et *al.*, 2012).

Des études récentes ont montré la complexité des souches de SARM d'origine animale. Ces souches isolées notamment chez des bovins présentaient une résistance variable à la céfoxitine et/ou oxacilline. Ces dernières, qui s'étaient révélées sensibles par les méthodes de détection classique (moléculaires et autres) de la résistance à la méthicilline, se trouvaient en faite porteuses d'un variant du gène *mecA* et donc effectivement résistantes. Cet homologue du gène *mecA* connu aujourd'hui sous le nom *mecC* a été ces dernières années rapporté dans de nombreux pays et chez de nombreuses espèces animales (Paterson et *al.*, 2014 ; Espinosa-Gongora et al., 2015).

De plus, une analyse rétrospective de beaucoup de banques d'isolats d'origine humaine et animale considérées comme étant sensibles à la méthicilline (SASM) par la technique classique recherchant le gène *mecA* se sont révélées positives au gène *mecC*. On s'est alors rendu compte, que finalement certaines souches SARM-L sont probablement plus anciennes que ce qu'on pensait, elles auraient seulement été sous-diagnostiquées par le passé. De plus, une récente étude, a rapporté des souches de SARM ne portant ni le gène *mecA* ni le gène *mecC* (Ba et *al.*, 2013), d'autres ont rapporté des souches porteuses du gène *mecA* mais sensibles à l'oxacilline (Pu et *al.*, 2014) soulevant ainsi un sérieux problème de détection de ces souches en laboratoire. Par ailleurs, ceci justifie la nécessité d'association de tests phénotypiques et génotypiques afin d'optimiser les chances de détection de cette résistance.

## 1. Prélèvements

Notre étude a été réalisée durant la période allant du 6 Février au 30 Mars 017. Les animaux prélevés proviennent de différents élevages ainsi que d'un abattoir de la région de Béjaia. Au cours de notre étude nous avons réalisé deux prélèvements par animal à savoir, un écouvillonnage nasal et un écouvillonnage rectal. Les prélèvements ont ensuite été acheminés dans une glacière au laboratoire d'écologie microbienne de l'université de Béjaia pour être analysés.

## 2. Isolement

Le protocole d'isolement des souches que nous avons utilisé est celui mis au point par Melle. MAIRI A. dans le cadre de sa thèse de Doctorat au niveau du laboratoire d'Ecologie Microbienne.

Nous avons tout d'abord procédé à un pré-enrichissement de nos échantillons. Pour ce faire, nous avons introduit les écouvillons dans 1 ml du bouillon Trypticase Soja (TSB) (Institut Pasteur d'Alger) et nous les avons incubé à 37°C pendant 24h.

Le lendemain nous avons réalisé un enrichissement en introduisant 50µl du bouillon de pré-enrichissement dans des tubes contenants 180 µl du bouillon Gioletti-Cantoni(GC) (Liofilchem®, Italie) additionné de tellurite de potassium et d'une solution d'antibiotiques puis nous avons rajouté quelques gouttes d'huile de paraffine dans chaque tube avant d'incuber à 37°C pendant 24 à 48h.

Au bout de 48H d'incubation, tous les tubes présentant un noircissement ont été ensemencés sur gélose Baird Parker (Conda, Espagne) additionnée de tellurite de potassium, jaune d'œufs et de la même solutiond'antibiotiques et on incube de nouveau à 37°C pendant 24 à 48h.

Les colonies noires, brillantes et entourées d'un halo clair ont été considérées de façon présomptive comme des souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM).

Nous avons réalisé des repiquages successifs sur gélose Chapman pour obtenir des souches pures.

## 3. Identification des souches présumées de SARM isolées

Nous avons réalisé une coloration de Gram, recherché la catalase et la DNase pour confirmer l'appartenance à l'espèce *S. aureus* de nos souches présumées SARM.

## 3.1. Coloration de Gram

Nous avons réalisé un frottis bactérien que nous avons coloré et observé au microscope optique. Le *S. aureus* apparait sous forme de cocci, coloré en violet (Gram+), regroupé en amas.

## 3.2. Recherche de la catalase

Nous avons déposé une goutte de peroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$) sur une lame propre et sèche puis nous avons ajouté quelques colonies à l'aide d'une pipette Pasteur. L'apparition d'une effervescence témoigne d'une catalase positive.

## 3.3. Recherche de la DNase

Nous avons ensemencé la gélose à ADN (Conda, Espagne) avec des colonies prélevées de culture fraiche à l'aide d'une anse de platine. Nous avons ensemencé quatre souches par boite en incluant un témoin négatif et un témoin positif, puis nous avons incubé les boites 24h à 37°C. Après incubation, nous avons inondé les boites d'une solution d'acide chlorhydrique (HCL) à 1N. Après cinq minutes de contact, l'apparition d'une zone claire autour de la strie est considérée comme DNase positive.

## 4. Conservation des souches

Les souches ont été doublement conservées dans un bouillon de conservation additionné de glycérol au congélateur et au réfrigérateur dans une gélose de conservation à -20°C et +4°C respectivement.

## 5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton (Conda, Espagne) selon les recommandations de l'EUCAST, 2017 (www.eucast.org). Les disques d'antibiotiques (tableau II) ont été déposés à la surface de la gélose. Après incubation à 37°C, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et interprétés selon les recommandations de l'EUCAST, 2017 excepté pour la vancomycine* où nous avons utilisé les recommandations de l'EUCAST, 2013.

**Tableau II :** Charge des disques d'antibiotiques testés et leurs diamètres critiques

| Nom | Abréviation | Charge (µg) | Famille | Diamètres critiques (EUCAST, 2017) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | (R) < | (S) ≥ |
| Céfoxitine | FOX | 30 | ß-lactamines | **20** | **20** |
| Vancomicyne* | VA* | 30 | Glycopeptides | **-** | **17** |
| Ciprofloxacine | CIP | 5 | Fluoroquinolones | **21** | **21** |
| Tobramycine | TOB | 10 | Aminosides | **18** | **18** |
| Rifampicine | RA | 30 | Rifamycines | **23** | **26** |
| Clindamycine | DA | 2 | Lincosamides | **19** | **22** |

## 6. Evaluation de la consommation d'antibiotiques en médecine vétérinaire dans la région de Béjaia

Nous avons suivi l'évolution de la vente de quelques familles d'antibiotiques au cours des trois dernières années dans notre région d'étude afin d'avoir une idée sur la quantité d'antibiotiques éventuellement consommée durant cette période. Pour ce faire, nous nous sommes rapprochés de la Direction des Services Agricoles de la wilaya (DSA) de Béjaia. Les résultats de notre étude ont été obtenus après analyse des données recueillies auprès du bureau chargé de la pharmacie vétérinaire et de la pharmacovigilance de l'inspection vétérinaire de wilaya (IVW).

## 1. Population d'animaux étudiée

Un total de 119 animaux dont 59 bovins, 31 ovins et 29 caprins, ont été inclus dans notre étude. Les lieux de prélèvements et les effectifs d'animaux par espèce et par élevage sont donnés dans le tableau III.

**Tableau III:** Lieu et nombre d'animaux prélevés par espèce

| Elevages | Lieu | Bovins | Ovins | Caprins |
|---|---|---|---|---|
| CAZEL | Souk El Tenine | 40 | 00 | 00 |
| Elevage 1 | Tala Khaled -Aokas- | 02 | 06 | 00 |
| Elevage 2 | Tala Khaled-Aokas- | 00 | 07 | 04 |
| Elevage 3 | Tala Khaled-Aokas- | 01 | 05 | 02 |
| Elevage 4 | Tala Khaled-Aokas- | 03 | 01 | 00 |
| Elevage 5 | Tala Khaled-Aokas- | 00 | 03 | 06 |
| Elevage 6 | Tala Merkha-Béjaia- | 00 | 03 | 02 |
| Elevage 7 | Tala Merkha-Béjaia- | 00 | 04 | 00 |
| Abattoir communal de Béjaia | Arrière port-Béjaia- | 13 | 05 | 15 |
| | Total | 59 | 31 | 29 |

Les élevages E1 à E7 étaient des élevages familiaux de petits effectifs avec un système d'élevage semi-extensif. L'élevage E3 était composé de bovins, ovins et caprins. Les élevages E1et E4 étaient composés d'ovins et de bovins et les élevages : E2, E6 et E7 étaient des élevages mixtes constitués d'ovins et de caprins. Le centre agro-zootechnique d'élevage (CAZEL) est une exploitation étatique d'élevage de bovins laitiers où était pratiqué le système d'élevage intensif. Le reste des animaux composant notre échantillon d'étude ont été prélevés à leurs arrivées à l'abattoir communal de Béjaia. Tous ces animaux prélevés étaient en bonne santé et ne recevaient aucun traitement antibiotique lors des prélèvements.

## 2. Nombre de souches SARM isolées

Au cours de notre étude 11 sur 14 isolats présumés de Staphylocoques ont été identifiés *S. aureus*. Les résultats des tests d'identification effectués sont donnés dans le tableau IV.

**Tableau IV:** Résultats des tests d'identification des souches présomptives de *S. aureus*

| Souches | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 | S11 | S12 | S13 | S14 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Coloration de Gram | $C.G^+$ | $C.G^+$ | $C.G^+$ | $C.G^+$ | $C.G^+$ | $C.G^+$ | $C.G^+$ | $C.G^+$ | $C.G^+$ | $C.G^+$ | $C.G^+$ | $C.G^+$ | $C.G^+$ | $C.G^+$ |
| Test catalase | N | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P |
| Test DNase | N | N | P | N | P | P | P | P | P | P | P | P | P | P |

(N : Négative, P : Positive, $C.G^+$ : Cocci à Gram positif)

## 3. Sensibilité aux antibiotiques

Le tableau N°IV donne les diamètres enregistrés pour les antibiotiques testés.

**Tableau V:** Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques pour les souches de SARM

| Souche | FOX | VA | CIP | TOB | RA | DA |
|---|---|---|---|---|---|---|
| S6 | 17 (R) | 22 (S) | 26 (S) | 20 (S) | 24 (S) | 26 (S) |
| S13 | 17 (R) | 17 (S) | 21 (S) | 18 (S) | 22 (R) | 21 (S) |
| S14 | 17 (R) | 17 (S) | 23 (S) | 17 (R) | 19 (R) | 21 (S) |

(S) : Sensible (R) : Résistant

Après identification et réalisation de l'antibiogramme, nous avons isolé 3 souches (S6, S14 et S13) de SARM sur un total de 238 prélèvements analysés. La taille de notre échantillon d'étude était de 119 têtes, ceci correspond donc à un taux de portage global d'environ 2%. Il est à noter que 2 souches (S6 et S14) ont été isolées chez l'espèce ovine, ce qui correspond à un taux de portage d'environ 6% (2/31). Ce taux étant le plus élevé enregistré dans notre étude. La souche S6 a été isolée chez un mouton au niveau de l'abattoir communal de Béjaia et la souche S14 a été isolée chez une brebis dans un élevage familial à Tala Merkha, Béjaia. Chez les caprins, une seule souche a été isolée, donnant ainsi un taux .de portage d'environ 3% (1/29). Cette souche, S13, a été isolée chez un bouc appartenant au même élevage familial à Tala Merkha, Béjaia. Tandis que, l'espèce bovine, enregistre un taux de portage nul (0/59), puisqu'aucune souche de SARM n'a été isolée chez cette espèce.

Il y a lieu de signaler aussi que les trois souches de SARM ont été isolées à partir de prélèvements nasaux.

Les trois souches testées étaient sensibles aux différentes classes d'antibiotiques testées à l'exception de la souche S3 qui présentait une résistance à la rifampicine et la souche S4 qui était résistante à la rifampicine et à la tobramycine.

## 4. Evolution de la vente des antibiotiques en médecine vétérinaire dans la région de Béjaia

Au cours de notre étude nous nous sommes intéressés uniquement aux antibiotiques vendus à des vétérinaires exerçant dans la wilaya de Béjaia. Seules les quantités concernant les familles suivantes : Tétracycline, Macrolide, ß-lactamine, Quinolone et polymexine ont été calculées.

Dans la wilaya de Béjaia, une seule entreprise de vente en gros de produits et de médicaments vétérinaires, EURL Hassaini-Pharm est en activité. Par conséquent, cette dernière était la seule source des données transmises à l'IVW.

Les résultats de notre enquête concernant la quantité d'antibiotiques vendue entre 2014 et 2016 sont illustrés dans la figure 01.

Cette figure montre une tendance à la hausse de la vente des antibiotiques durant ces trois dernières années dans notre wilaya.

L'année 2016 enregistre la quantité vendue la plus conséquente, celle-ci correspond au triple de celle vendue en 2015. La figure 02 montre les résultats détaillés par famille d'antibiotiques vendus.

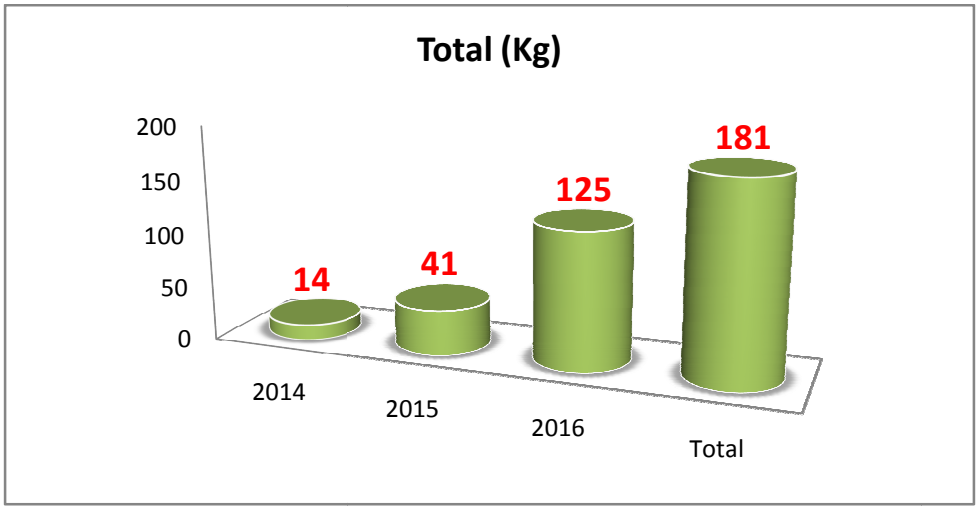


**Figure 01 :** Quantité d'antibiotiques vendue à Béjaia entre 2014 et 2016

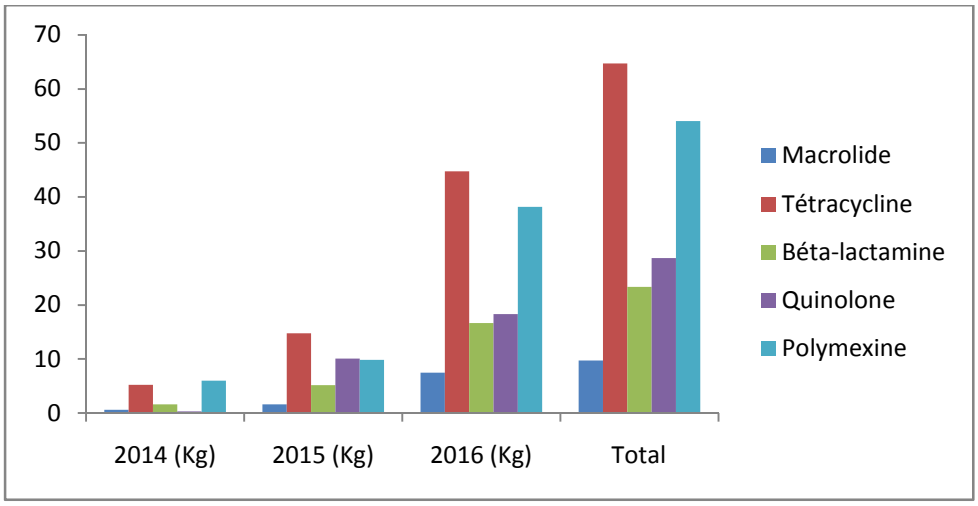


**Figure 02 :** Evolution de la quantité d'antibiotique vendue dans la wilaya de Béjaia entre 2014 et 2016

Cette figure montre une évolution quantitative proportionnelle des différentes familles d'antibiotiques entre 2014 et 2016. Les tétracyclines et les polymexines sont les molécules les plus vendues suivis des quinolones et des ß-lactamines.

La toute première souche de *S. aureus* résistante à la méthicilline chez l'animal a été isolée chez un cas de mammite bovine, en Belgique en 1972. Puis, ces souches ont été signalées par la suite chez de nombreuses espèces animales notamment dans les années 90. Dans les années 2000 de nombreux travaux rapportent la présence de SARM chez plusieurs espèces animales domestiques et sauvages (SARM-L) mais ce n'est qu'une fois que le potentiel zoonotique de ses souches établi et surtout lorsque des cas d'infections humaines par des souches d'origine porcine en 2006 ont été rapportés que ce phénomène a été considéré comme un véritable problème de santé public. Depuis, de nombreux travaux sont entrepris en vue d'une meilleure compréhension de l'épidémiologie et de l'impact des souches de SARM-L sur la santé humaine et animale (Madec et Haenni, 2010).

Dans notre étude le taux de portage de SARM chez le bovin était nul. Ceci est corroboré par certaines données de la littérature, ainsi une prévalence nulle de SARM a été enregistrée au cours d'une étude Canadienne en 2011 réalisée sur un total de 490 bovins provenant de différentes fermes (Weese et *al.*, 2011). De plus, chez cette tranche d'animaux les méthodes idéales de prélèvement n'ont pas été décrites ainsi les sites de prélèvements au cours de notre étude peuvent ne pas être des sites de prédilection chez cette espèce. En effet, des études rapportent de faible taux (Rahimi et *al.*, 2015), (Capurro et *al.*, 2010) de portage nasal de *S. aureus* chez les bovins en comparaison avec les petits ruminants (ovins et caprins) (Mork et *al.*, 2011) par conséquent il est de nature à ce que la prévalence de SARM le soit aussi (Haran et *al.*, 2012 ; Luini et *al.*, 2015).

Plusieurs travaux, à l'instar de Mai-siyama et *al.*, au Nigéria 2014 (Mai-siyama et *al.*, 2014 ) et d'Alzohairy, en 2011 en Arabie saoudite (Alzohairy, 2011), ont rapporté des prévalences supérieures à la notre. Les prévalences enregistrées dans ces études étaient de 15.5% et de 28.8% respectivement. Le taux enregistré dans notre étude peut s'expliquer par le fait que les animaux inclus sont issus d'élevages où l'usage des antibiotiques reste rare, exclusivement réservé à des indications strictement thérapeutiques et par conséquent la pression de sélection y est moindre.

Toutefois cela ne nous permet d'affirmer que le SARM n'existe pas chez le bovin, en effet la faible taille de notre échantillon d'étude fait que ce dernier est loin d'être représentatif. De plus, connaissant la prédominance de *S. aureus* dans les infections mammaires chez les ruminants et notamment son implication dans des formes sub-cliniques, l'analyse d'échantillons de lait serait probablement utile d'autant plus que les mammites sont un cas d'indication majeure des ß-lactamines lors du traitement médical qui est la plus part du temps fait à l'aveugle. Les substances administrées par voie locale sont donc à long terme de nature à sélectionner des germes résistants dont le *S. aureus* au niveau de la mamelle (Garcia-Alvarez et *al.*, 2012 ; Joshi et *al.*, 2014).

Ces dernières années les échecs thérapeutiques rencontrés en clinique ont poussé les vétérinaires à prescrire des céphalosporines pour les cas de mammites or ces molécules sont de nature à augmenter les taux de portage de SARM comme l'ont montré des études chez le porc (Dorado-Garcia et *al.*, 2015). Un effet comparable a été décrit pour les quinolones chez l'Homme, une corrélation a pu être établie entre l'usage de ces molécules et la diminution des souches SASM chez les individus contrairement aux souches SARM qui du fait de leur co-résistance se maintiennent (Couderc et *al.*, 2015). Cela soulève donc un sérieux problème en matière de santé animale pour le traitement des cas de mammites mais aussi en matière de santé humaine où une diffusion insidieuse de souches SARM via la chaine alimentaire est fort probable, d'autant plus que certains antibiotiques comme les quinolones et les céphalosporines sont considérés comme des antibiotiques d'importance critique pour la santé humaine (Sanders et *al.*, 2011).

Chez les petits ruminants, nous avons rapporté un taux de portage de SARM de 6% pour les ovins et de 3% pour les caprins. Ces taux sont relativement faibles et concordent avec ceux rapportés par Mai-siyama et *al.*, en 2014 qui étaient de 4.6% pour les ovins et 3.4% pour les caprins ainsi qu'avec une étude Tunisienne qui a rapporté un taux de portage nasal de 3% chez les ovins (Gharsa et *al.*, 2012).

Par contre, ils sont largement inférieurs à ceux rapportés par Alzohairy en 2011 qui étaient de 28.8% chez les ovins et 20% chez les caprins. Ceci peut s'expliquer dans notre cas par la nature des élevages visités et du système d'élevage pratiqué dans ces derniers. En effet, les animaux appartenaient à des élevages familiaux où était pratiqué le système d'élevage semi extensif. Ce genre d'élevages est loin des conditions des élevages industriels où les animaux sont sans cesse soumis à des conditions de stress et de confinement, ce qui fragilise ces derniers et justifient en plus de l'effet zootechnique l'usage excessif des antibiotiques.

Dans la sphère familiale le recours aux antibiotiques reste rare, il est aussi avéré que ces animaux sont d'une rusticité exceptionnelle que viennent renforcer les programmes vaccinaux assurés par l'état contre diverses pathologies notamment virales susceptibles d'affaiblir les animaux et de préparer le lit pour des infections bactériennes. Toutefois, la nature mixte des élevages traditionnels en plus de la présence d'autres espèces (oiseaux, animaux de compagnie) dans un même environnement favorise les passages trans-espèces d'autant plus que certains pathogènes comme *S. aureus* ne connaissent pas de barrière d'espèce qui est de nature à limiter leur dissémination. De plus, le manque de qualification des éleveurs et le fait qu'ils soient peu

sensibilisés aux problèmes d'ordre infectieux font que ces derniers soient moins rigoureux en matière d'hygiène et de biosécurité.

Les élevages familiaux de petits effectifs et le système d'élevage pratiqués dans les élevages visités semblent freiner au mieux l'amplification et la dissémination de la résistance chez ces espèces. En effet, contrairement à la filière avicole pionnière dans l'adoption du mode d'élevage industriel, la situation est plus alarmante. La production de protéine animale bon marché comme alternative aux viandes rouges qui reste une denrée de luxe et peu inaccessible pour le consommateur algérien a justifié l'encouragement de la filière malgré que les inconvénients liés au mode d'élevage intensif notamment la forte prévalence des BMR chez ces animaux et leur implication en matière de santé animale et humaine ont été décrits depuis longtemps (Guillot et *al.*, 1989).

En Algérie, les élevages avicoles peuvent constituer une source majeure notamment de SARM-L dans l'environnement et leur diffusion aux autres espèces est facilitée par la promiscuité de différents élevages. Cela est d'ailleurs conforté par les résultats de Serradj, 2016 qui a rapporté un taux de portage de SARM de 33% chez le poulet de chair et 22% chez la poule pondeuse contre 11%, 6% et 6% chez les ovins, bovins et caprins respectivement. Ces prévalences supérieures à celles enregistrées dans notre étude pourraient s'expliquer par le fait que l'étude de Serradj a inclus en plus de la Kabylie, d'autres wilayas (Jijel, Bouira, Bordj-Bouariridj et Sétif). Ces dernières sont connues pour une plus grande vocation d'élevage notamment de type intensif.

La détection de SARM chez des ovins avant abattage confirme une fois de plus le risque pour la santé humaine, non seulement pour le consommateur mais aussi pour le personnel dans les établissements destinés à l'abattage des animaux mais aussi pour l'ensemble des personnes qui entrent en contact avec ces animaux (vétérinaires, éleveurs) (Chairat et *al.*, 2015). En effet, plusieurs travaux ont rapportés que le contact étroit et répété avec ses animaux constitue un facteur de risque d'acquisition de SARM-L. De plus, certaines de ces souches peuvent être à l'origine d'infections graves (Van Cleef et *al.*, 2011). Ces personnes à risque peuvent alors servir de réservoirs pour le SARM-L et assurer sa désamination en communauté et pour cause de nombreuses études ont rapportées de telles souches chez les membres des familles de personnes qui sont constamment en contact avec des animaux mais aussi chez des personnes qui n'avaient aucun lien antérieur avec les animaux (Lekkerkerk et *al.*, 2015).

Par ailleurs, la sensibilité à plusieurs classes d'antibiotiques des souches de SARM isolées suggèrent que certaines d'entre elles peuvent être porteuses du gène *mecC*. Ces souches ont

notamment été rapportées par de nombreux travaux chez des animaux de compagnies, des animaux d'élevages, des animaux sauvages et même chez l'homme (Harrison et *al.,* 2013 ; Laurent et *al.,* 2012 ; Espinosa-Gangora et *al.,* 2015). Des travaux ont rapporté une forte probabilité de transmission entre Homme et ruminants de SARM porteur du gène *mecC* et pour cause, des cas d'infections humaines impliquant de telles souches ont été souvent rapportées chez des personnes venant d'un milieu rural (Gindonis et *al.*, 2013). D'autres travaux suggèrent un autre scénario concernant le flux de SARM entre l'Homme et les animaux supposant une origine humaine des souches multirésistantes qui sont transmises aux animaux directement ou indirectement. En effet, le clone ST5 d'origine humaine ayant subi quelques remaniements génétiques afin de mieux s'adapter à son nouvel hôte était en cause de sévères infections chez la volaille (Lowy et *al.*, 2011).

Notre étude a rapporté un total de 181Kg d'antibiotiques vendus entre 2014 et 2016 à Béjaia. Cette quantité est très faible vu l'importance du cheptel que compte cette wilaya. Pour l'année 2015, nous avons rapporté un total de 41Kg tandis que Serradj, en 2016 avait rapporté un total de 1178Kg. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'au cours de son étude la totalité des molécules vendues par EURL-Hassaini-Pharm ont été incluses y compris celles vendues à des vétérinaires exerçant hors de la wilaya de Béjaia. De plus, dans notre étude la source des données analysées était le service de l'IVW de la DSA et non pas EURL-Hassaini-Pharm. Par ailleurs, cette faible quantité enregistrée dans notre étude peut s'expliquer par le fait que les vétérinaires de la wilaya ne viennent pas tous s'approvisionner systématiquement chez EURL-Hassaini-Pharm.

Notre étude a révélé une augmentation alarmante de la quantité d'antibiotiques vendue dans la wilaya de Béjaia ces trois dernières années. Cette même tendance à la hausse a été enregistrée dans l'étude de Serradj, 2016 qui a enregistrée un pic pour l'année 2015. Dans notre étude, c'est l'année 2016 qui enregistre le pic des ventes avec un total de 125Kg. En effet, la wilaya de Béjaia est une wilaya à vocation d'élevage. Elle comptait 46667 têtes de bovins, 90549 têtes d'ovins et 40172 têtes de caprins contre 4083344 poulets de chair et 301631 poules pondeuses en 2016 (DSA de Béjaia, 2017).

Depuis leur découverte, la médecine vétérinaire a été la plus vorace vis-à-vis des antibiotiques. Et pour cause, ces derniers trouvent plusieurs indications ; à titre curatif pour traiter les animaux malades, à titre métaphylactique où les animaux du même troupeau encore sains recevrons le même traitement qu'ont reçu les animaux malades et enfin à titre préventif ou prophylactique afin de prévenir certaines maladies chez des animaux reconnus à risque (Aarestrup, 2015). On sait que l'usage des antibiotiques que soit à titre curatif ou préventif est susceptible de

promouvoir l'émergence de résistances bactériennes. De plus, la découverte de l'effet zootechnique de certaines molécules dans les années 60 a justifié l'incorporation de ces dernières à faible doses dans les aliments destinés aux animaux d'élevages (Carlet et Shlemmer, 2015). Bien que cette pratique soit interdite dans beaucoup de pays, elle reste de pratique courante notamment dans les pays en voie de développement où les moyens de surveillance et de contrôle n'existent pas encore. En Algérie, la vente illicite des médicaments à usage vétérinaire a été souvent signalée. De plus, les éleveurs ont souvent recours aux antibiotiques et ce sans avis médical.

Par ailleurs, cette augmentation des quantités d'antibiotiques vendues dans un contexte où l'antibiorésistance ne demeure plus un phénomène occulte pourrait s'expliquer par des résistances cliniques aux molécules administrées en première intention, ce qui justifie alors un changement de molécule ou dans les cas de récidives, des traitements à répétition.

Les pathologies infectieuses sont très fréquentes chez les animaux et leurs traitements sont très souvent administrés de façon probabiliste. Le manque de moyens et l'urgence de la prise en charge des animaux poussent les cliniciens à prescrire des molécules à large spectre comme les tétracyclines et les quinolones hors ces antibiotiques sont de nature à sélectionner d'avantage des BMR. De plus, même en cas de choix judicieux des molécules administrées l'observance thérapeutique est souvent médiocre.

Tout ceci rend la résistance aux antibiotiques en médecine vétérinaire encore plus complexe qu'en médecine humaine. Toutefois, des recherches prometteuses sont sur le point de mettre à jour quelques alternatives aux antibiotiques dans les élevages et d'ici là il parait impératif de sensibiliser au maximum sur la nécessité de réduire au plus tôt l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire.

Malgré la prévalence faible et la sensibilité à plusieurs classes d'antibiotiques qui font que le risque lié à ces souches soit encore minime. Le fait qu'elles soient détectées dans des élevages traditionnels et surtout en situation de portage confirme que ces derniers sont des réservoirs à SARM et représentent donc une menace non négligeable.

En dépit du danger certain que représentent ces souches SARM-L pour la santé humaine, leur existence se révèle utile pour la science en servant de model d'étude permettant de mieux comprendre les interactions hôte-pathogène mais aussi de cerner les facteurs de virulence et les facteurs prédisposant au développement de l'infection clinique. Cette meilleure connaissance va sans doute ouvrir de nouvelles perspectives pour le traitement et les programmes de contrôle afin de

reprendre le dessus sur ce redoutable pathogène qui cause des torts en termes de rentabilité dans les élevages et menace parfois la vie des individus.

En perspectives, les résultats de notre étude sont préliminaires. Il convient de les compléter par :

- Une caractérisation moléculaire des souches SARM afin de déterminer leur origine. La recherche des facteurs de virulence de ces souches va également éclairer sur la pertinence du danger qu'elles représentent.
- Augmenter l'effectif des animaux à prélever.
- Réaliser des enquêtes plus poussées pour évaluer la consommation des antibiotiques dans les élevages.

**Aarestrup FM.** (2015). The livestock reservoir for antimicrobial resistance: a personal view on changing patterns of risks, effects of interventions and the way forward rstb.royalsocietypublishing.org Phil. Trans. R. Soc. **370**: 20140085.

**Alzohairy MA.** (2011).Colonization and antibiotic susceptibility pattern of methicillin resistance *Staphylococcus aureus*(MRSA) among farm animals in Saudi Arabia.Journal of Bacteriology Research.Vol. **3**, 63-68.

**Antri K, Rouzic N, Boubekri I, Dauwalder O, Beloufa A, Ziane H, Djennane F, NeggaziM,Benhabyles B, Bes M, Tazir M, Etienne J, Ramdani-Bouguessa N.** (2010). High prevalence of community and hospital acquired infections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing Panton-Valentine leukocidin gene in Algiers. PathologieBiologie.**58**, e15–e20.

**Ba X, Harrison EM, Edwards GF, Holden MTG, Larsen AR,Petersen A, Skov RL, Peacock SJ, Parkhill J, Paterson GK et Holmes MA.** (2013). Novel mutations in penicillin-binding protein genes in clinical *Staphylococcus aureus* isolates that are methicillin resistant on susceptibility testing, but lack the *mec* gene. J AntimicrobChemother.**69**, 594–597.

**Becker K, Ballhausen B, Kahl BC, Kock R**. (2015). The clinical impact of livestock-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus of theclonal complex 398 for humans. Vet Microbiol. **1135**, 30082-1.

**Benito D, Gomez P, Aspiroz C, Zarazaga M, Lozano C, Torres C.** (2015). Molecular characterization of Staphylococcus aureus isolated from humans related to a livestock farm in Spain, with detection of MRSA-CC130 carrying *mecC* gene: A zoonotic case?.EnfermInfeccMicrobiol Clin. **34**, 280-5.

**Bergonier D, De Crémoux R, Rupp R, Lagriffoul G, Berthelot X.** (2003). Mastitis of dairy small ruminants. Vet. Res. **34**, 689–716.

**Capurro A, Aspán A, Ericsson Unnerstad H, Persson Waller K et Artursson K.** (2010). Identification of potential sources of *Staphylococcus aureus*in herds with mastitis problems (2010).J DairySci. **93**,180–191

**Carlet J, Shlemmer B.** (2015). Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation déterminée et durable. Bilan des données de surveillance. **17**, 150.

**Chairat S, Gharsa H, Lozano C, Gomz-Sanz E, Gomez P, Zarazaga M, Boudabous A, Torres C, Ben Slama K.** (2015). Charactérization of *Staphylococcus aureus* from Raw Meat Samples in Tunisia : detection of Clonal Lineage ST398 from the African Continent. Foodborne pathg Dis. **12**, 686-92.

**Cohn LA, Middleton JR.** (2010). Aveterinary perspective on methicillin-resistant staphylococci.J Vet EmergCrit Care.**20**, 31-45.

**Couderc C, Thiébaut ACM, Lawrance C, Bauchiat C, Herrmann JL, Salomon J, Guillmot D.** (2015). Fluoroquinolone impact on nasal methicillin-resistant and methicillin-sensitive Staphylococcus aureus colonization durations in neurologic Long-Term-Care facilities dans la Thèse de Doctorat en médecine, spécialité épidémiologie de l'université Pièrre et Marie Curry, France.

**De La Fuente R, Suarez, G et Schleifer KH.**(1985). *Staphylococcus aureus*subsp.*anaerobius*subsp. nov., the Causal Agent of Abscess Disease of Sheep.International Journal Of Systematicbacteriology.99-102.

**Delarras C.** (2007) Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier TEC & DOC. p385.

**Dinges MM, Orwin PM etSchlievert PM.**(2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. ClinicalMicrobiologyReviews. **13**, p16-34.

**Djoudi F, Bonura C, Touati A, Aleo A, BenallaouaSetMammina C.** (2016). Staphylococcal cassette chromosome *mec* typing and *mecA* sequencing in methicillin-resistantstaphylococci from Algeria: a highly diversifiedelement with new mutations in *mecA*.Journal of Medical Microbiology. **65**, 1–8.

**Dorado-García A, Dohmen W, Bos MEH, Verstappen KM, Houben M, Wagenaar JA, Heederik DJJ.**(2015). Dose-Response Relationship between Antimicrobial Drugs and Livestock-Associated MRSA in Pig Farming.Emerging Infectious Diseases.**21**, 950-59.

**Espinosa-Gongora C, Harrison EM, Moodley A, Guardabassi L et Holmes MA.** (2015).MRSA carrying *mecC* in captive mara.JAntimicrob Chemother.**70**,1622–1624.

**Foster AP,** (2012). Staphylococcal skin disease in livestock. Vet Dermatol.**23**,342-51, e63.

**Foster TJ.**(2005) Immune evasion by staphylococci.Nat Rev Micro**. 3**, 948-958.

**Gharsa H, Ben Slama B, Lozano C et al.**(2012). Prevalence, antibiotic resistance, virulence traits and genetic lineages of *Staphylococcus aureus* in healthy sheep in Tunisia. Vet Microbiol.**156**, 367–373.

**Gindonis V, Taponen S, Myllyniemi AL, Pyörälä S, Nykäsenoja S, Salmenlinna S, Lindholm L et Rantala M.** (2013). Occurrence and characterization of methicillin-resistant staphylococci from bovine mastitis milk samples in Finland. ActaVeterinariaScandinavica.**55**,61.

**Gordon RJ, Lowy FD.**(2008). Pathogenesis of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Infection.Clin Infect Dis.**46**, S350–S359.

**Guillot JF.** (1989). Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Ann. Rech. Vét.**20**, 3-16.

**Gutiérrez D, Delgado S, Vázquez-Sánchez D, Martínez B, LópezCabo M, Rodríguez A, HerreraJJ.etGarcía P.** (2012) Incidence of *Staphylococcus aureus* and Analysis of Associated Bacterial Communities on Food Industry Surfaces. Applied and Environmental Microbiology. 8547–8554.

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

**Harraghy N, Hussain M, Haggar A, Chavakis T, Sinha B, Herrmann M, and Flock J-I.**(2003).The adhesive and immunomodulating properties of the multifunctional *Staphylococcus aureus* protein Eap.Microbiology.**149**, 2701-2707.

**Harrison EM, Paterson GK, Holden MTG, LarsenJ, Stegger M, Larsen AR, Petersen A, Skov RL, Christensen JM, Zeuthen AB, Heltberg O, Harris SR, Zadoks RN, Parkhill J, Peacock SJ, Holmes MA.** (2013). Whole genome sequencing identifies zoonotic transmission of MRSA isolateswith the novel *mecA* homologue *mecC*. EMBO Mol Med**. 5**, 509–515.

**Heilmann C.** (2011). Adhesion Mechanisms of *Staphylococci.*Medicine and Biology.**715**, 105-123.

**Hiramatsu K, Ito T, Tsubakishita S, Sasaki T, Takeuchi F, Morimoto Y, Katayama Y, Matsuo M, Kuwahara-Arai K, HishinumaT,Baba T.** (2013). Genomic Basis for Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. Infect Chemother. **45**, 117-136.

**Joshi LR, Tiwari A, Devkota SP, Khatiwada S, PaudyaS et Pande KR**. (2014). Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) in Dairy Farms of Pokhara, Nepal. Inter J Vet Sci. **3**, 87-90.

**Laurent F, Chardon H, Haenni M, Bes M, Reverdy ME, Madec JY, Lagier E, Vandenesch F, et Tristan A.** (2012). MRSA Harboring *mec*A Variant Gene *mec*C, France.Emerging Infectious Diseases.**18**, 1465-67.

**Le Loir Y, Baron F et Gautier M.** (2003). *Staphylococcus aureus* and foodpoisoning.Genet. Mol. Res. **2**, 63-76.

**Le Loir Yves, Gautier M**. (2010). *Staphylococcus aureus*. Edition Lavoisier TEC & DOC. p1-17. Consulté en [en ligne].

**Lekkerkerk WSN, van Wamel WJB, Snijders SV, Willems RJ, van Duijkeren E, Broens EM, Wagenaar JA, Lindsay JA, Vosa MC.**(2015). What Is the Origin of Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*Clonal Complex 398 Isolates from Humans without

Livestock Contact? An Epidemiological and Genetic Analysis.Journal of Clinical Microbiology.**53**, 1836-1841.

**Licois D,** (2010). Pathologie d'origine bactérienne et parasitaire chez le Lapin : Apports de la dernière décennie. CUNICULTUREMagazine, 2010, vol.37, page 35. Disponible sur :http://www.cuniculture.info/Docs/Magazine/Magazine2010/Fichiers-pdf/mag-37-035.pdf

**Lin Y-C et Peterson ML.**(2010). New insights into the prevention of staphylococcal infections and toxic shock syndrome.Expert Review of Clinical Pharmacology.**3**, p753-767.

**Lowy DF, MD.**(1998).*Staphylococcus aureus*infections.The New England Journal of Medicine.520-532.

**Lowy FD, M.D.** (2011).How *Staphylococcus aureus*Adapts to Its Host. The New England Journal of Medicine from, nejm.org. 1987-90.

**LPSN**, List of Prokaryoticnameswith Standing in Nomenclature - Genus, *Staphylococcus* (2017)[en ligne], Disponiblesur: http://www.bacterio.net/staphylococcus.html

**Luini M, Cremonesi P, Margo G, Bianchini V, Minozzi G, Castiglioni B, Piccinini R.** (2015). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is associated with low within-herd prevalence of intramammary infections in dairy cows: Genotyping isolates. Vet Microbiol. **178**, 270-274.

**Lyon BR, et Skurray R**. (1987). Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus*: Genetic Basis. Microbiological Reviews, Mar. 88-134.

**Madec JY, Haenni M.** (2010). meticillin-resistant*Staphylococcusaureus* (MRSA) among animals in France : prevalence and co-resistance. bull. acad. vét. france — 2010 - tome 163 - n°3. p275-280.

**Madec JY.** (2013). Antimicrobial resistance in animals: A risk for humans? Journal des Anti-infectieux. **15**, 178—186.

**Mai-siyamaIB, Okon KO, Adam NB, Askira UM, Isiaka TM, Adamu SJ et Mohammed A.** (2014). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) colonization rate among ruminant animals slaughtered for human consumption and contact person in Maiduguri, Nigeria. African Journal of Microbiology research.p2643-49.

**Martinez JL.**(2014). General principles of antibiotic resistance in bacteria.DDTEC-405.Disponible sur : www.drugdiscoverytoday.com

**Muylaert A, Mainil JG.** (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». Ann. Méd. Vét.**156**, 109- 123.

**Novick RP et Jiang D**. (2003) The staphylococcal saeRS system coordinates environmental signals with agr quorum sensing. Microbiology.**149**, 2709-2717.

**Otto, M.** (2012) MRSA virulence and spread.Cell Microbiol.**14**, 1513-1521.

**Paterson GK, Morgan FJE, Harrison EM, Peacock SJ, Parkhill J, Zadoks RN et Holmes MA.** (2014).Prevalence and properties of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in bovine bulk tank milk in Great Britain.JAntimicrobChemother. **69**, 598–602.

**Petinaki E, Spiliopoulou I.** (2012). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among companion and food-chain animals: impact of human contacts ClinMicrobiol Infect. **18**, 626-34.

**Peton V.et Le Loir Y.** (2014). Staphylococcus aureus in veterinary medicine.Infection, Genetics and Evolution.**21**, 602–615.

**Pu W, Su Y, Li J, Li C, Yang Z, Deng H, Ni C.** (2014). High Incidence of Oxacillin-Susceptible *mecA*-Positive *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA) Associated with Bovine Mastitis in China.Ploseone.Vol.**9**, Issue 2, e88134.

**Rachel J, Lowy G et Lowy FD.**(2008). Pathogenesis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*Infection.Clinical Infectious Diseases.**46**,S350–9.

**Rahimi H, DastmalchiSaei H etAhmadi M.** (2015). Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Frequency and Antibiotic Resistance in Healthy Ruminants. Jundishapur J Microbiol. **8**(10): e22413.

**Sá-Figueiredo AM et Ferreira FA**. (2014). The multifaceted resources and microevolution of the successful human and animal pathogen methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.MemInstOswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. **109**(3): 265-278.

**Sanders P, Bousquet-Melou A, Chauvin C, Toutain PL.**(2011). Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique. Consulté [en ligne]: https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00939567

**Serradj C.** (2016). Etude du portage des souches de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline chez les animaux d'élevage. Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques de l'université A. MIRA de Béjaia.

**Smith TC, Wardyn SE**. (2015). Human Infections with *Staphylococcus aureus*CC398.Curr Environ Health Rep.**2**,41-51.

**Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, Friedrich AW, Kearns AM, Westh H, Mackenzie FM.** (2012).Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods.Int J Antimicrob Agents.**39**,273-82.

**Unnerstad HE, Rantzien BM. Et Börjesson S.** (2013). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing *mecC* in Swedish dairy cows.Acta Vet Scand.**55**(1): 6.

## *Références bibliographiques*

**Van Cleef BA, Graveland H, Maenen AP, van de Giessen AW, Heedrik D, Wadgenaar JA, Kluytmans JA**. (2011). Persistance of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*in field workers after short-term occupational exposure to pigs and veal calves. J Clin Microbiol.**49**, 1030-3.

**Verkade E, Kluytmans J.** (2013). Livestock-associated *Staphylococcus aureus* CC398: Animal reservoirs and human infections. Infection, Genetics and Evolution.**21**, 523–530.

**Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH et Whitman WB.** (2009). Bergey's manual of Systematic Bacteriology, Second edition, volume three: The *Firmicute*s. p392-400.

**Watkins RR, David MZ, Salata RA**. (2012). Current concepts on the virulence mechanisms of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*.J Med Microbiol. **61**, 1179-93.

**Weese J.S, Hannon SJ, Booker CW, Gow S, Avery BP et Reid-Smith RJ.** (2011). The Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonization in Feedlot Cattle.Zoonoses and Public Health.**59**, 144–147.

**Wertheim HFL , Melles DC, VosM C, Van Leeuwen W, Van Belkum A, Verbrugh HV, Nouwen JL.**(2005).The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. Lancet Infect Dis. **5**, 751–62.

www.eucast.org. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).Recommendations de 2013.

www.eucast.org. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Recommendations de 2017.

**Résumé**

**Objectif:** Le *S. aureus* résistant à la méthicilline dans les élevages (SARM-L) est très peu documenté en Algérie. Notre étude à pour objectif de déterminer sa prévalence chez quelques animaux d'élevages dans la région de Béjaia.

**Méthode:** Dés écouvillons nasaux et rectaux ont été réalisés sur un total de 119 animaux, dont 59 bovins, 31 ovins et 29 caprins. Après analyse des prélèvements, l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches SARM-L a été réalisée.

**Résultats:** Nous avons enregistré un taux de portage de SARM-L nul chez les bovins, de 6% chez les ovins et de 3% chez les caprins. Les souches de SARM-L isolées étaient sensibles à la plus part des antibiotiques testés.

**Conclusion:** L'existence de souches SARM dans les élevages traditionnels constitue une sérieuse préoccupation pour la santé humaine et animale.

**Mots-clés:** SARM-L, animaux d'élevage, portage, Béjaia.

**Abstract**

**Objective:** Our study aims to determinate the prevalence of LA-MRSA carriage in livestock from Béjaia city.

**Method:** We analyzed nasal and rectal swabs recovered from a total of 119 animals of which 59 bovines, 31 sheep and 29 goats than we studied susceptibility to antibiotics of the LA-MRSA isolates.

**Results:** Our study highlighted a zero rate carriage of LA-MRSA in bovines. Carriage rates were about 6% and 3% for sheep and goats respectively. Otherwise, LA-MRSA isolates in our study were susceptible to almost antibiotics tested.

**Conclusion:** The description of LA-MRSA in livestock represents a great concern for the human and animal health.

**Keywords:** LA-MRSA, Livestock, carriage, Béjaia

*République Algérienne Démocratique et Populaire*
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*
**Université A. MIRA - Bejaia**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**
**Département de Microbiologie**
**Filière : Sciences biologiques**
**Option : Microbiologie en secteur biomédicale et vétérinaire**

**Réf : ……..**

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

# MASTER

# *Thème*

## Prévalence et sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* isolées de mammites subcliniques

Présenté par : M$^{elle}$ ***DERGUINI Assia***

Soutenu le : **17 JUIN 2017**

Devant le jury composé de :

| | | |
|---|---|---|
| Mme. Keramane .B | MAA | Présidente |
| Pr. Touati.A | Professeur | Encadreur |
| Mme. Mezhoud. H | MAA | Examinatrice |

**Année universitaire : 2016/2017**

## *Remerciements*

Je tiens tout d'abord à remercier mon promoteur le Professeur TOUATI Abdelaziz pour toutes les connaissances qu'il m'a transmises au cours de cette année et surtout pour sa disponibilité au cours de ce travail. J'espère apprendre encore de vous.

A ma co-promotrice Mlle MAIRI Assia, merci de m'avoir guidée tout au long de ce travail et d'avoir partagé vos connaissances avec nous, je vous en suis reconnaissante.

Aux membres de jury, merci de nous avoir fait l'honneur de présider et d'examiner notre travail.

Au Docteur IDRES Takfarinas, merci de m'avoir guidée tout au long de mon cursus à l'école Nationale Supérieure Vétérinaire et d'avoir continué à le faire pendant mon Master II.

Aux docteurs vétérinaires qui m'ont aidée sur le terrain, je vous en suis sincèrement reconnaissante.

A toute l'équipe du Cazel et des élevages de Melbou et de Lota, merci pour votre coopération.

# *Dédicaces*

A mes parents, les deux personnes les plus chères dans ma vie, ma raison d'être, je vous remercie d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir toujours soutenue dans mes projets, j'espère ne jamais vous décevoir. Je vous aime

A la mémoire de ma grand-mère Zahra, tu as laissé un grand vide que nul ne peut combler, tu me manques tellement, repose en paix Nana, je t'aime.

A la mémoire de mes grands parents paternels et de ma grand-mère, de la part de votre nièce qui vous aime tant, reposez en paix.

A mes adorables sœurs ***Elissa***, ***Lamina***, ***Sabiha*** et ***Khalissa***, vous êtes les meilleures sœurs qu'on puisse avoir.

A mes deux frères ***Mohand*** et ***Tarik***, merci de me traiter telle une princesse et d'être toujours à mes cotés, je vous aime.

*A ma moitié, merci de m'encourager et de franchir, avec moi, chaque pas qui me mène vers la réussite, dans les meilleurs moments comme dans les pires, il semble que les épreuves soient moins pénibles à deux. N'est-ce pas là l'expression d'un amour fou et éternel !*

A mes neveux ***Tinhinene***, ***Ilyasse***, ***Rayane,Amine***, ***Nélia*** et ***Eylane***, de la part de votre tata qui vous aiment tant.

A mes deux belles sœurs ***Sihem***et ***Nora***, merci pour tout.

A mes beaux-frères, ***Zahir***, ***Sofiane*** et ***Karim***, merci d'être toujours là pour ma famille.

A ***Tarek- Aguellid***, tu es pour moi un petit frère, merci d'être toujours là quand j'ai besoin de toi, tu ne m'as jamais laissée tomber, je t'en suis reconnaissante.

A mes oncles et tantes,

A mes amies : ***Minou***, ***Amina***, ***Khaoula,Amira*** , ***Yasmine***, ***Amel*** vous me manquez terriblement, j'attends avec impatience l'été pour vous revoir.

A mon meilleur ami ***Aghiles***, j'espère que notre amitié sera éternelle.

A mes cousins et cousines, vous êtes les meilleurs.

A toute la petite équipe du laboratoire, nous avons partagé d'agréables moments ensemble, j'espère que nous aurons l'occasion d'en partager encore.

A tous mes nouveaux amis de l'université de Bejaia, merci de nous avoir acceptés parmi vous.

*« Pour faire qu'un rêve devienne vrai, la première vertu c'est d'avoir une grande capacité à rêver, la seconde c'est la persévérance, c'est-à-dire la foi dans le rêve »*

**HANS *Selye***

# Table des matières

**Liste des abréviations** .....

**Liste des figures** .....

**Liste des tableaux** .....

**Synthèse bibliographique** ..... 1-9

**Introduction** .....

**Chapitre I : Etude des mammites** .....

I . Définition ..... 1

II. La classification des mammites ..... 1

II.1. Mammites cliniques ..... 1

II.1.1. La mammite clinique suraigüe ..... 1

II.1.2. La mammite clinique aigüe ..... 1

II.1.3. La mammite chronique ..... 2

II.2. Mammites subcliniques ..... 2

**III.** Etiologie des mammites ..... **2**

III.1. Les facteurs déterminants ..... 2

III.2. Les facteurs prédisposant ..... 3

III.2.1. Facteurs de sensibilité à l'infection liés à l'animal ..... 3

L'âge et nombre de lactation ..... 3

Le stade de lactation ..... 3

La morphologie de la mamelle et du trayon ..... 4

III.2.2. Autres facteurs ..... 4

La saison ..... 4

L'alimentation ..... 4

Le type de stabulation ..... 4

La machine à traire ..... 4

**Chapitre II : Les mammites à *Staphylococcus aureus*** .....

I .Les mammites à *Staphylococcus aureus* ..... 7

II. Les biofilms ..... 8

III. Le traitement des mammites ..... 9

**Partie expérimentale** ..... 10-21

**Matériel et méthodes** .....

# Table des matières

I. Lieu de l'étude ..... 10

II. Le CaliforniaMastitis Test (CMT) ..... 10

III. Prélèvement de lait ..... 11

**IV.** Recherche des *Staphylococcues aureus* ..... **11**

V. Identification ..... 12

V.1. Coloration de Gram ..... 12

V.2. Recherche de la catalase ..... 12

V.3. Recherche de la Désoxyribonucléase (DNase) ..... 12

VI. Etude de la sensibilité des souches de *Staphylocoques aureus* aux antibiotiques ..... 12

VII. Détection de la formation des biofilms ..... 13

**VIII.** Conservation des souches ..... **13**

**Résultats** .....

I.Caractéristiques de la population prélevée ..... 14

II. Résultats au test de CaliforniaMastitis Test (CMT) ..... 14

III. Caractéristiques de la population positive au CMT ..... 15

IV. Prévalence des mammites subcliniques IV. Prévalence des mammites subcliniques ..... 16

V. Prévalence des mammites subclinique dans les trois fermes ..... 17

VI . Résultats bactériologiques ..... 18

Résultat de l'identification et de la sensibilité aux antibiotiques ..... 18

Résultats de la recherche de la formation des biofilm ..... 19

Caractéristiques des vaches ayant une mammite subclinique à *Staphylococcus aureus* ..... 19

**Discussion et conclusion** ..... **21**

**Références bibliographiques** .....

# Liste des abréviations

**CMT :** CaliforniaMastitis Test

**NTC :** Nombre totale de cellule

**DNase :** Désoxyribonucléase

**Cazel :** Centre agro-zootechnique d'élevage

**Hcl :** Acide chlorhydrique

# Liste des figures

**Figure 1** : Illustration schématique de l'incidence de nouvelles infections mammaires durant le cycle de lactation .....4

**Figure 2** : Schéma représentant l'infection de la glande mammaire .....7

**Figure 3** : Répartition des vaches positives au CMT en fonction du stade de lactation.....15

**Figure 4**:Répartition des vaches positives au CMT en fonction du rang de lactation. .....15

**Figure 5** :Répartition des vaches positives au CMT en fonction de la race .....16

**Figure 6** : Photo des colonies noires attestant de la formation de biofilm .....19

# Liste des tableaux

**Tableau I**: Facteurs généraux de l'alimentation et risque d'infection mammaire.....5

**Tableau II** : Interprétation du CaliforniaMastitis Test. .....11

**Tableau III**:Tableau des antibiotiques testés et l'interprétation des diamètres d'inhibition ... 13

**Tableau IV** : Caractéristiques de la population prélevée .....14

**Tableau V** :Prévalence globale des mammites subcliniques en fonction du stade de lactation, du numéro de lactation et de la race .....17

**Tableau VI** : Prévalence des mammites subcliniques dans les trois élevages en fonction du stade de lactation, du numéro de lactation et de la race .....18

**Tableau VII** :Diamètres des zones d'inhibitions des *Staphylococcus aureus.* .....19

**Tableau VIII** : Prévalence des vaches ayant une mammite subclinique à *Staphylococcus aureus.* .....20

Le lait est l'une des denrées alimentaires les plus importantes pour l'être humain, il est universellement reconnu comme un régime complet en raison de sa composition. Cependant, la consommation du lait peut présenter un risque pour la santé du consommateur à cause de la présence de certains pathogènes zoonotiques et de résidus de médicaments antibiotiques. Plusieurs facteurs peuvent affecter la qualité du lait tel que la contamination pendant ou après la traite et la présence d'une infection de la mamelle (Haftu et *al.*,2012).

La mammite peut être définie comme une inflammation de la glande mammaire qui se manifeste suite à la pénétration et au développement dans le canal du trayon de microorganismes pathogènes. La mammite est considérée comme l'une des pathologies les plus fréquentes dans les élevages laitiers. Environ 50% des bovins laitiers dans le monde sont touchés par l'une des formes des mammites (Shem et *al.*, 2000). C'est l'une des causes de réforme involontaire des vaches laitières (M'Sadak et *al.*, 2014) .

Maladie multifactorielle, le risque de son apparition peut être augmenté par des facteurs chimiques, physiques ou traumatiques. Même après mise en place de plusieurs programmes de lutte, la mammite reste toujours une maladie à forte incidence dans le monde ce qui induit des pertes économiques très importantes, suite à une diminution de la qualité et de la quantité de la production laitière et une augmentation du cout des protocoles thérapeutiques et des services vétérinaires (Oviedo-Boyso et *al*., 2006).

Le caractère clinique ou non d'une mammite est principalement lié au genre et à l'espèce de la bactérie pathogène, les bactéries coliformes causent le plus souvent des mammites aigues cliniques, le *Staphylococcus aureus* peut provoquer une mammite clinique mais il est le plus souvent responsable de formes subcliniques responsable de 80% de l'ensemble des pertes économiques. Les mammites subcliniques à *Staphylococcus aureus* se manifestent principalement chez la vache laitière par une élévation de cellules somatiques dans le lait, sur le terrain ou au laboratoire, c'est une infection très difficile à diagnostiquer (Wallemacq et *al*., 2009).

En Algérie l'élevage bovin est principalement localisé dans le nord du pays, les besoins en lait des consommateurs ne sont pas couverts par la production locale ce qui classe l'Algérie au troisième rang mondiale en matière d'importation de lait et de produits laitiers après l'Italie et le Mexique (Senoussi et *al*., 2010).

La pathologie de la glande mammaire est l'une des principales maladies rencontrées dans les élevages laitiers algériens, cette maladie est l'ennemi principal de la production laitière. Bouzid et *al*., 2011 ont révélé une prévalence globale de mammites de 44,8% dans le Nord-Est- Algérien. Dans la région d'Oran une fréquence de 40,57% de mammites subcliniques a été enregistrée par Benhamed et *al.,* en 2014.

Le *Staphylococcus aureus* est l'un des germes les plus impliqués dans les mammites subcliniques au niveau des élevages algériens, sa mise en évidence est de nature à diminuer leur impact sur la production laitière et la santé du troupeau. Dans la wilaya de Béjaia, les études sur les mammites subcliniques sont très rares .Nous nous sommes fixés comme objectif l'étude de la contribution d'un germe à réservoir mammaire qui est le *Staphylococcus aureus*dans les mammites subcliniques dans quelques élevages de la daïra de Souk-El-Tenine, et l'étude des différents paramètres influant l'apparition de la mammite subclinique.

Dans un premier temps, nous avons utilisé un test de diagnostic appelé CaliforniaMastitis Test (CMT) afin de détecter les vaches ayant une mammite subclinique, dans un second temps, le lait des vaches ayant des mammites subciniques a été l'objet d'une recherche bactériologique afin d'identifier le *Staphylococcus aureus.*

# *Synthèse bibliographique*

# I . Définition

La mammite est une inflammation de la glande mammaire due le plus souvent à la pénétration d'une bactérie dans le canal du trayon. Cette infection peut toucher un ou plusieurs quartiers de la mamelle (Bosquet et *al*, 2002). L'un des critères de dépistage de la mammite est l'augmentation de la teneur de cellules somatiques dans le lait. Lors de mammites, la composition ainsi que la qualité physico-chimique du lait subissent d'importants changements (Waes et *al*., 1969).

# II. La classification des mammites

Les mammites sont classées en deux catégories

## II.1. Mammites cliniques

La mammite clinique se manifeste par une modification de la sécrétion lactée (lait aqueux, présence de grumeaux….) avec présence des signes primordiaux de l'inflammation (douleur, rougeur, chaleur, gonflement). Dans certains cas, la mammite clinique peut être accompagnée de symptômes généraux tels que la fièvre, la déshydratation de l'animal, la faiblesse (Descôteaux, 2004). La mammite clinique peut être suraigüe, aigue ou chronique.

### II.1.1. La mammite clinique suraigüe

Elle se caractérise par une altération de l'état général de l'animal qui présente de la fièvre et de l'abattement et parfois des symptômes nerveux. La mamelle est congestionnée, œdémateuse présentant dans certains cas un abcès ou une fistule. Ces mammites peuvent conduire à une chute très importante de production ainsi qu'à des lésions fonctionnelles irréversibles destinant la vache à la réforme (Gourreau, 2008).

### II.1.2. La mammite clinique aigüe

La mamelle apparait rouge, chaude et gonflée accompagnée d'une modification de la qualité et de la quantité du lait. Contrairement à la forme suraigüe, l'animal ne présente pas de symptômes généraux et l'évolution est moins rapide. La mammite clinique aigue peut apparaitre à n'importe quel stade de lactation et peut parfois conduire à la mort (Hanzen, 2008-2009).

### II.1.3. La mammite chronique

Faisant couramment suite à une mammite suraigüe ou aigüe, l'infection évolue sur plusieurs mois ou plusieurs années. L'animal semble avoir un bon état général. Des zones fibrosées apparaissent au niveau de la mamelle et sont palpables après la traite. La quantité de lait diminue au fur et à mesure jusqu'au tarissement spontané du quartier. La mammite chronique est caractéristique des infections à staphylocoques ou streptocoques (Hanzen, 2008-2009).

## II.2. Mammites subcliniques

La mammite subclinique se caractérise par l'absence de symptômes apparents. Le lait et la mamelle apparaissent normaux. Afin de la dépister, le CaliforniaMastitis Test qui a pour principe de détecter le taux de cellules somatiques dans le lait est le plus souvent utilisé. La mammite sublinique peut guérir sans aucun traitement ou persister pendant plusieurs mois. Elle peut également s'aggraver en mammite clinique (Lèvesque , 2006).

# III. Etiologie des mammites

## III.1. Les facteurs déterminants

La grande majorité des mammites sont infectieuses, mais elles peuvent être traumatiques, physiques ou chimiques. Les mammites sont causées par un spectre large de pathogènes qui pénètrent dans le canal du trayon et se multiplient à l'intérieure de la citerne du pis (Carrillo-Casas et *al.*, 2012).

Les bactéries causant les mammites sont classées en fonction de leur réservoir primaire en deux catégories : Environnementale (*Echerichia coli*, *Streptococcus parauberis*, *Streptococcus uberis*, et *Streptococcus dysgalactiae*) ou contagieuse (*Staphylococcus aureus*,*Streptococcusagalactiae*) (Riffon, 2001).

Les germes contagieux sont décrits comme étant des organismes adaptés à la survie chez l'hôte et particulièrement dans la glande mammaire et se propagent d'un animal à un autre pendant la traite. Ces germes causent des infections mammaires subcliniques se traduisant par l'augmentation du taux de cellules somatiques dans le lait (Leucocytes, cellules épithéliales) (Bradley, 2002).

Les germes environnementaux proviennent de l'environnement de l'animal (litière, angrès, sol….), leur présence est liée aux pratiques d'hygiène au niveau de l'élevage et ne peuvent être contrôlés qu'en améliorant la propreté des vaches. Ils se développent dans les conditions d'humidité et surtout en présence du fumier. Ces bactéries colonisent la peau du pis et lors du lavage de la mamelle sans séchage, elles pénètrent le canal du trayon (Garcia, 2004).

Il existe également une deuxième classification basée sur la sévérité de la réaction mammaire à l'infection groupant ainsi les bactéries en majeures et mineures. Les bactéries majeures dont *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococus aureus*, *Streptococcus*spp, coliformes, *Escherichia coli*, *Klebsiella*spp et *Mycoplasma*spp, sont la plus part du temps responsables de mammites cliniques.

Les germes mineurs (Staphylocoques autres que *Staphylococcus aureus* principalement *Staphylococcus chromogenes,Staphylococcushyicus,Staphylococcusepidermidis* et *Staphylococccusxylosus*) sont associés à une infection modérée sans apparition de symptômes (Bogni*et al*, 2011).

## III.2. Les facteurs prédisposant

### III.2.1. Facteurs de sensibilité à l'infection liés à l'animal

#### ➢ L'âge et nombre de lactation

La fréquence des infections mammaires augmente avec l'âge et plus précisément avec le nombre de lactation. Cette prédisposition plus importante aux infections mammaires peut être expliquée par la présence de certains éléments liés au nombre de lactation tels que l'allongement du trayon, son rapprochement au sol et diminution de l'élasticité du sphincter au fil des lactations (Poutrel, 1985).

#### □ Le stade de lactation

Pour ce qui est du stade de lactation, certaines études ont démontré que la fréquence des mammites semble diminuer en fonction du stade de lactation, ceci pourrait être expliqué par le fait que les modifications hormonales survenant après le post partum, diminuent la résistance de la mamelle aux infections (Bradley et *al*., 2004).

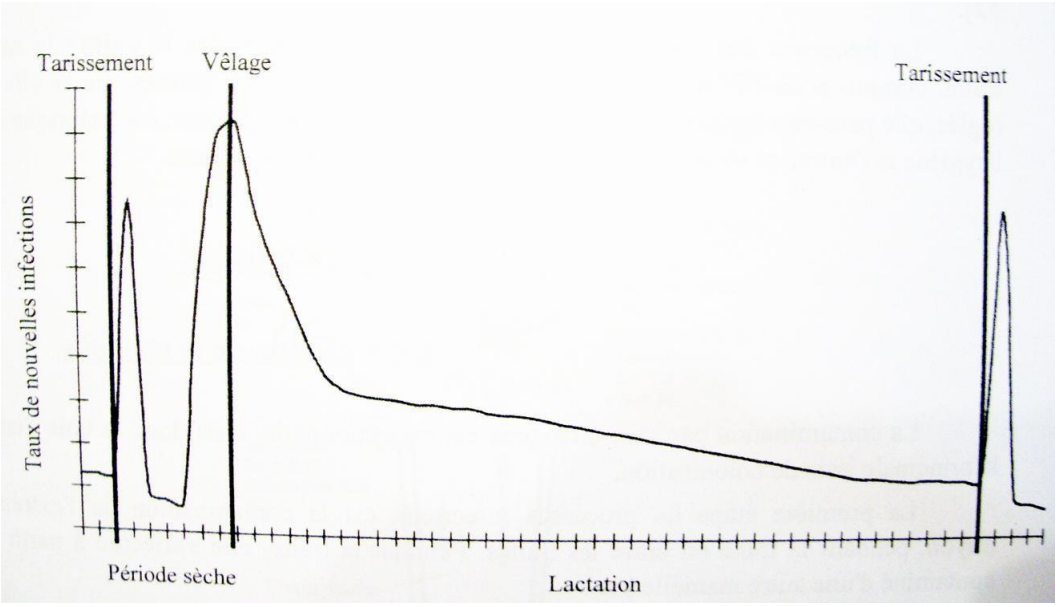


**Figure 1** : Illustration schématique de l'incidence de nouvelles infections mammaires durant le cycle de lactation (Bradley et *al*., 2004).

### La morphologie de la mamelle et du trayon

La distance séparant l'extrémité du trayon et le sol semble jouer un rôle important dans la sensibilité à l'infection. Nous remarquons que les vaches ayant des quartiers pendulaires sont les plus sensibles aux mammites, les trayons en forme de cylindre semblent être plus souvent infectés que ceux en forme d'entonnoir (Hanzen, 2009-2010).

## III.2.2. Autres facteurs

### La saison

Le taux de cellules somatiques dans le lait témoin d'une réaction inflammatoire est variable selon les saisons. Ce taux semble être faible en hiver et élevé en été. Durant l'été, les conditions climatiques telles que l'humidité et la température, favorisent la multiplication des bactéries de l'environnement, ces dernières se propagent dans la litière des animaux et dans le matériel utilisé au sein de l'élevage (Sharma et *al*., 2011).

### ➢ L'alimentation

La relation entre les mammites et l'alimentation reste encore mal connue et semble être principalement indirecte. Lors de la mise à l'herbe de l'animal, nous constatons une augmentation du nombre de mammite, ceci peut être expliqué par l'augmentation de la

contamination du milieu par modification de la consistance des matières fécales (plus liquides). Pour ce qui est de l'excès azoté, les résultats de différentes études ont suggérés qu'il n y'avait aucune relation avec l'apparition des mammites (Baudet et *al*., 2009).

**Tableau I**: Facteurs généraux de l'alimentation et risque d'infection mammaire. (Baudet et *al*., 2009).

| **Evénement** | **Conséquence** | **Lien avec le risque d'infection mammaire** |
|---|---|---|
| Acidose-Alcalose | -Diarrhées<br>-Maladies virales du trayon<br>-Baisse des défenses immunitaires | -Contamination accrue du milieu<br>-Sensibilité aux infections |
| Déficit azoté | -Perturbation des synthèses protéiques | -Sensibilité aux infections |
| Syndrome de la vache grasse Cétose | -Amaigrissement, hypoglycémie, taux de corpscétoniques élevé, stéatose hépatique<br>-Relâchement des fibres musculaires | -Sphincter moins tonique |
| Transitions alimentaires (courtes ou absentes) | -Diarrhées<br>-Amaigrissement (?) | -Contamination accrue du milieu |

## Le type de stabulation

Le logement des animaux englobe un ensemble de facteurs favorisants ou déterminants l'apparition des mammites. Une mauvaise hygiène favorise une augmentation de la contamination du lait, augmentant ainsi le risque de mammite. La stabulation libre peut augmenter le risque de transmission de germes d'un animal à un autre, la stabulation entravée peut également être un facteur prédisposant aux mammites en provoquant des lésions au niveau du trayon, ces lésions résultent d'une difficulté du déplacement au sein du logement (Hanzen, 2009-2010).

## ➢ La machine à traire

La machine à traire joue un rôle important dans l'état de la mamelle et peut augmenter le risque de mammite en permettant le transfert de bactérie d'un quartier d'une vache à une autre , en provoquant des lésions sur la mamelle, la rendant ainsi plus susceptible aux infections bactériennes et en augmentant le reflux de germes à l'intérieure de la mamelle à la

fin de la traite. Il est recommandé de traitre les vaches atteintes de mammites à la fin dans le but de réduire le risque de contamination des autres vaches. Afin d'éviter la transmission de germes d'une vache à une autre, l'unité de traite peut être rincée avec de l'eau et désinfectée, mais cette procédure doit être appliquée correctement afin d'éviter de contaminer le lait avec le désinfectant (Homan et *al.*, 1996).

## I .Les mammites à *Staphylococcus aureus*

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

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

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

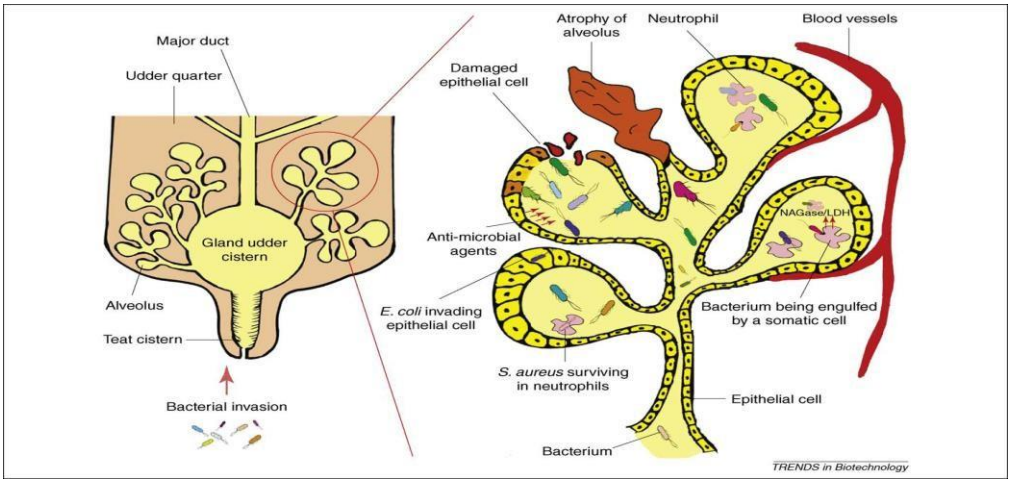


**Figure 2** : Schéma représentant l'infection de la glande mammaire (Viguier, 2009).

## II. Les biofilms

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

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

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

La production du biofilm du *Staphylococcus aureus* est codée par l'opéron *ica*formé par les gènes *icaA*, *icaB*, *icaD* et un gène régulateur icaR qui code pour les protéines *ICAA*, *ICAB*, *ICAC* et *ICAD* (Marques et *al*., 2016).

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

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

## III. Le traitement des mammites

La mise en place d'un protocole thérapeutique doit prendre en considération le diagnostic, le germe, l'animal, l'antibiotique à utiliser et la réponse au traitement. Afin de réussir la thérapie, il est important d'intervenir dès que les symptômes commencent à apparaitre, l'antibiothérapie doit être prolongée pendant au moins trois traites successives et doit se réaliser dans les meilleurs conditions d'asepsie afin d'éviter de nouvelles infection ou une surinfection (Hanzen, 2009-2010).

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

La mammite subclinique doit être systématiquement traitée au tarissement dans le but de guérir les infections qui sont apparues durant la lactation et de prévenir les nouvelles infections lors du tarissement. Par ailleurs un traitement peut être envisagé durant la lactation afin d'accélérer l'élimination de l'infection et de réduire les pertes de la qualité et de la quantité de lait (Hanzen, 2009-2010).

# *Réalisation expérimentale*

# *Matériel et méthodes*

## I. Lieu de l'étude

Notre étude a été entreprise au niveau de la daïra de Souk-El-Tenine, wilaya de Bejaia et a concerné trois élevages distincts :

- *Le premier élevage* : est le complexe agro-zootechnique et d'élevage (CAZEL) situé dans la localité de Lota. L'effectif des vaches laitières en productiondu CAZEL est au nombre de 30 têtes.
- *Le deuxième élevage* : élevage familiale situé également dans la localité de Lota, comprenait 13 vaches laitières.
- *Le troisième élevage* : élevage familiale situé dans la commune de Melbou dont l'effectif des vaches en production est de 8 têtes.

Le nombre total de vaches prélevées est de 51 têtes.

## II. Le CaliforniaMastitis Test (CMT)

Test indicateur du taux de cellules somatiques dans le lait, il nous renseigne sur la présence d'une réaction inflammatoire. Il est constitué d'un détergent (Teepol) qui induit l'éclatement des cellules somatiques, à l'origine de la gélification du lait. L'interprétation de ce test se fait en fonction du degré de viscosité qui est évaluée de 0 à 4. En résumé, le but consiste à prélever environs 2 ml de lait provenant de chaque trayon et collectés séparément dans l'un des quatre puits d'une palette, Un volume de réactif égal à celui du lait est alors ajouté, un mélange et une homogénéisation par mouvements circulaires pendant 10 à 30 secondes sont alors effectués. Sitôt après, un début de gélification commence à être observé, cette dernière est notée selon l'échelle rapportée dans le tableau II. Un deuxième prélèvementsera effectué pour les trayons dont la note du CMT est supérieure ou égale à 2 afin de l'analyser au niveau du laboratoire de microbiologie.

**Tableau II** : Interprétation du CaliforniaMastitis Test. (Amadou, 2004)

| Gel | NTC/ml | Note | Inflammation | Interprétation |
|---|---|---|---|---|
| Aucun floculat | 30.000 à 250.000 | 0 (-) | Nulle | -Mamelle saine ou infection latente |
| Léger floculat, disparait après 10 agitations du plateau | 250.000 à 500.000 | 1 (±) | Légère | -Normale après 5 lactations ou en fin de lactation.<br>-Anormale : légère mammite traumatique ou infectieuse |
| Floculat persistant | 500.000 à 1.000.000 | 2(+) | Traumatique ou infectieuse | -Normale sur vaches âgées.<br>-Pathologique : mammite subclinique légère. |
| Floculat épais adhérent au centre de la coupelle | 1.000.000 à 5.000.000 | 3(++) | Discrète | -Mammite subclinique infectieuse bien installée. |
| Floculat type 'blanc d'œuf' adhérent au centre de la coupelle. | 5.000.000 à 50.000.000 | 4(+++) | Etendue et intense | -Mammite subclinique et clinique. |

Légende : **NTC** : Nombre totale de cellule

## III. Prélèvement de lait

Après lavage de la mamelle avec de l'eau tiède, nous l'avons essuyée avec un papier absorbant et nous avons désinfecté les trayons avec de l'alcool à 70%. Les premiers jets de lait ont été éliminés et les trayons ont été prélevés individuellement dans un tube Falcon stérile. Les prélèvements de lait ont été conservésà +4°C, et ont été transportés au laboratoire d'écologie microbienne de l'université de Béjaïa.

## *IV.* Recherche des *Staphylococcues aureus*

Le protocole d'isolement des souches que nous avons utilisé est celui mis au point par Mlle MAIRI Assia dans le cadre de sa thèse de doctorat au laboratoire d'Ecologie Microbienne.

Nous avons introduit 1ml de lait dans 5ml du bouillonGiollitiCantoni additionné de tellurite de potassium. Nous avons ensuite incubé à 37°C pendant 48heures.Les tubes présentant un précipité noir au fond du tubeont été considérés comme positifs.A partir de ces tubes positifs, nous avons prélevé 200 µl et nous les avons ensemencés sur la

géloseBairdParker additionnée de tellurite de potassium et de jaune d'œuf. Après une incubation à 37°C pendant 24heures, les souches de *Staphylococcus aureus*apparaissent sous formes de colonies noires entourées d'une zone claire.

## V. Identification

### V.1. Coloration de Gram

Nous avons réalisé un frottis en déposant sur une lame, une goutte d'eau distillée et une culture bactérienne, après homogénéisation, nous avons fixé le frottis à l'aide du bec Bunsen. Le frottis a été coloré avec le violet de gentiane et de la fushine. Le *Staphylococcus aureus* apparait sous microscope optique grossissement ×100 en coques violets groupés en amas (grappe de raisin).

### V.2. Recherche de la catalase

Sur une lame sèche et propre, nous avons déposé une goutte d'eau oxygénée à 10% , à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée, nous avons ajouté l'inoculum bactérien et nous l'avons dissocié dans le $H_2O_2$. La présence de la catalase se traduit par la formation d'une effervescence.

### V.3. Recherche de la Désoxyribonucléase (DNase)

Afin de mettre en évidence la Désoxyribonucléase, nous avons ensemencé par stries une gélose à ADN à l'aide d'une anse de platine chargée de culture. Après incubation à 37°C pendant 48 heures, nous avons ajouté à la gélose une solution d'acide chlorhydrique 1N et nous avons attendu 5 à 10 minutes. Après avoir éliminé l'excès d'HCL, la lecture a été faite sur un fond noir. Les souches DNase positives sont entourées d'un halo transparent résultant de la dégradation de l'ADN.

## VI. Etude de la sensibilité des souches de *Staphylocoques aureus*aux antibiotiques

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été testée par la méthode de diffusion en gélose Mueller-Hinton selon les recommandations de l'EUCAST 2017. A partir d'une culture pure, nous avons préparé une suspension bactérienne. Avec un écouvillon essoré, nous avons ensemencé toute la surface de la gélose Mueller-Hinton en stries serrées et nous avons déposé

avec une pince stérile les disques d'antibiotiques (Tableau III). Les diamètres des zones d'inhibitions ont été mesurés après 24heuresd'incubation à 37°C.

**Tableau III**: Tableau des antibiotiques testés et l'interprétation des diamètres d'inhibition (l'EUCAST 2017)

| Antibiotiques | Abréviations | Charge | Diamètres critiques (mm) | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Sensible | Résistant |
| **PENICILLINE G** | Peni G | 1 unité | ≥26 | ≤26 |
| **OXACILLINE** | OX | - | - | - |
| **KANAMYCINE** | KAN | 30 | ≥18 | ≤18 |
| **GENTAMICINE** | GEN | 10 | ≥18 | ≤18 |
| **TOBRAMYCINE** | TOB | 10 | ≥18 | ≤18 |
| **TETRACYCLINE** | TE | 30 | ≥22 | ≤19 |
| **ERYTHROMYCINE** | EM | 15 | ≥21 | ≤18 |
| **CLINDAMYCINE** | DA | 2 | ≥22 | ≤19 |
| **TRIMETHOPRIME+SULFAMIDES** | STX | 1,25-23,75 | ≥17 | ≤14 |
| **OFLOXACINE** | OFX | 5 | ≥20 | ≤20 |
| **RIFAMPICINE** | RA | 5 | ≥26 | ≤23 |
| **ACIDE FUSIDIQUE** | FA | 10 | ≥24 | ≤24 |

## VII. Détection de la formation des biofilms

La recherche de la capacité à former un biofilm a été réalisée par une méthode qualitative qui est la méthode de la gélose rouge congo décrite par Hassan et *al.*Après avoir préparé la gélose rouge congo (Bouillon cœur-cervelle 37g/L, Agar 50g/L, Saccharose 50g/L et rougecongo 8g/L) nous avons ensemencé nos souches en spots et nous avons incubé à 37°C pendant 24 heures. Cette expérience a été faite en triplicata.

La formation de colonies noires avec un aspect sec et une consistance cristalline atteste de la production de biofilm. (Hassan et *al*., 2011)

## VIII. Conservation des souches

Les souches de *Staphylococcus aureus* ont été conservées en duplicata dans un bouillon (Tryptone soja et glycérol) au congélateur à -20°C et dans de la gélose de conservation à +4°C au réfrigérateur.

Pour l'étude statistique de nos résultats, nous avons utilisé le test exacte de FISHER .

# *Résultats obtenus*

## I.Caractéristiques de la population prélevée

Au cours de notre étude, 51 vaches en reproduction ont été prélevées dans le but de diagnostiquer une mammite subclinique. Le tableau ci-dessous résume la répartition de ces animaux selon le stade de lactation, le numéro de lactation et la race.

**Tableau IV** : Caractéristiques de la population prélevée

| | | **Cazel** | **Lota** | **Melbou** | **Total** |
|---|---|---|---|---|---|
| Stade de lactation | Début de lactation | 5 | 3 | 1 | 9 |
| | Mi-lactation | 13 | 0 | 0 | 13 |
| | Fin de lactation | 12 | 10 | 7 | 29 |
| Le numéro de lactation | Primipares | 30 | 6 | 1 | 37 |
| | Multipares | 0 | 7 | 7 | 14 |
| | Montbéliarde | 0 | 11 | 8 | 19 |
| La race | Holstein | 30 | 0 | 0 | 30 |
| | Fleckvieh | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | Brune de l'atlas | 0 | 1 | 0 | 1 |

## II. Résultats au test de CaliforniaMastitis Test (CMT)

Au total 41,18% (n=21) des sujets testés au CMT ont été positifs, ce qui indique la présence probable d'une mammite subclinique chez ces vaches.

Les résultats du CMT effectué sur les 200 quartiers fonctionnels des 51 vaches ont montré que 19% (38 quartiers) sont positifs.

Nous notons que sur les 21 vaches positives au CMT, 42,86% (n=9) ont un seul quartier positif au CMT ; 38,10% (n=8) ont 2 quartiers positifs au CMT ; 14,29% (n=3) ont trois quartiers positifs au CMT et 4,76% (n=1) ont quatre quartiers positifs au CMT.

## III. Caractéristiques de la population positive au CMT

La répartition des 21 vaches positives au CMT en fonction du stade de lactation est donnée dans la figure ci-dessous, nous notons ainsi que 66,67% sont en stade de fin de lactation

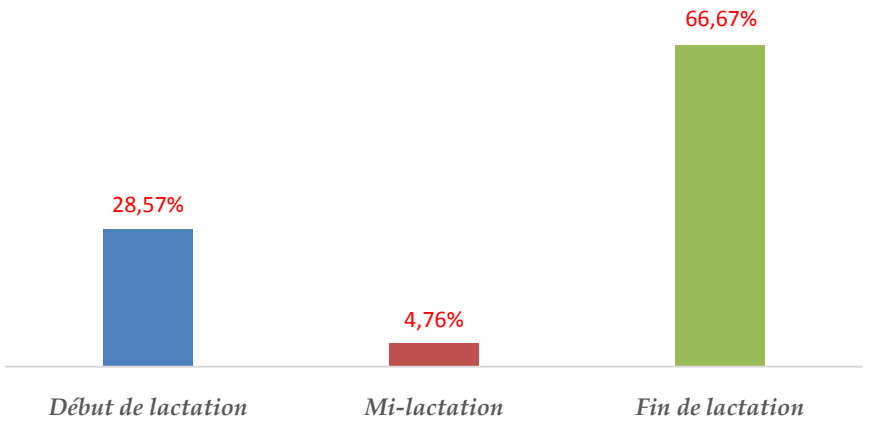


**Figure 3:**Répartition des vaches positives au CMT en fonction du stade de lactation

La figure ci-dessous nous montre la répartition des 21 vaches positives au CMT en fonction de la parité. Il est à noter que 52,38% sont des primipares.

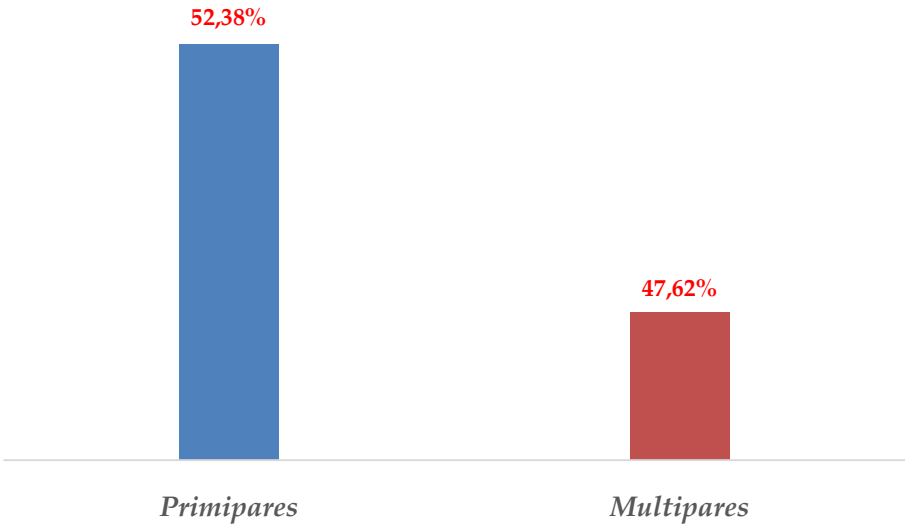


**Figure 4**: Répartition des vaches positives au CMT en fonction du rang de lactation

Sur les 21 vaches ayant probablement une mammite subclinique, 66,67 % sont de race Montbéliarde. Nous notons qu'il y'a absence de vaches positives au CMT de race Fleckvieh et Brune de l'Atlas

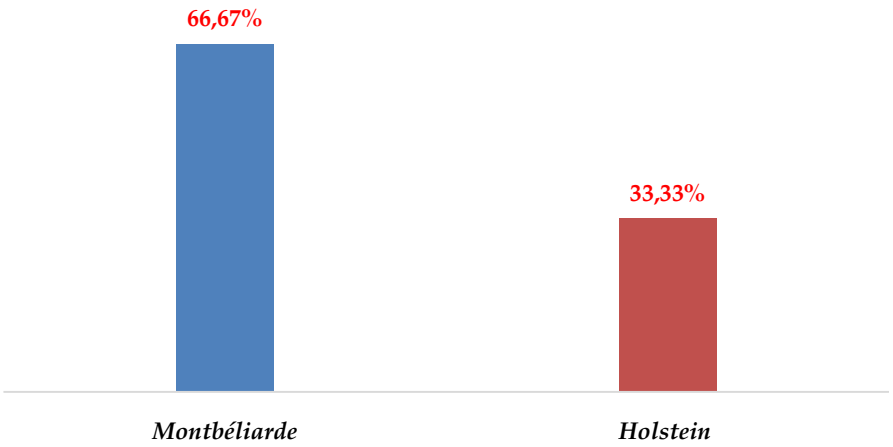


**Figure 5** : Répartition des vaches positives au CMT en fonction de la race.

Pour ce qui est des 38 quartiers positifs au CMT, nous notons que 52,63% (n=20 quartiers) sont de position postérieure.

## IV. Prévalence des mammites subcliniques

La prévalence des vaches ayant une mammite subclinique est de 66,66% pour les vaches en début de lactation, 71,43% chez les vaches multipares et 73,68% chez les vaches de races Montbéliarde. Le tableau V nous donne les différentes prévalences des mammites subcliniques en fonction des différents paramètres.

**TableauV:**Prévalence globale des mammites subcliniques en fonction du stade de lactation, du numéro de lactation et de la race.

| | | **Prévalence** | **p-value** |
|---|---|---|---|
| **Stade de lactation** | Début de lactation | 6/9 (66,66%) | **0,00699** |
| | Mi-lactation | 1/13 (7,69%) | |
| | Fin de lactation | 14/29 (48,28%) | |
| **Le numéro de lactation** | Primipares | 11/37 (29,73%) | **0,0175** |
| | Multipares | 10/14 (71,43%) | |
| **La race** | Montbéliarde | 14/19 (73,68) | **0,001073** |
| | Holstein | 7/30 (23,33%) | |
| | Fleckvieh | 0/1 | |
| | Brune de l'atlas | 0/1 | |

Letest exacte de Ficher a montré des différences significatives des prévalences obtenues en fonction du stade de lactation, du numéro de lactation et de la race.

## V. Prévalence des mammites subclinique dans les trois fermes

Au niveau de l'élevage de Lota et de Melbou, 100% des vaches en début de lactation sont mammiteuses. La prévalence des vaches multipares atteintes de mammites subcliniques est de 85,71% dans l'élevage de Lota et dans l'élevage de Melbou l'infection mammaire est présente chez 62,50% des vaches de race Montbéliarde. (Tableau VI)

**Tableau VI :** Prévalence des mammites subcliniques dans les trois élevages en fonction du stade de lactation, du numéro de lactation et de la race.

| | | **Cazel** | **Lota** | **Melbou** |
|---|---|---|---|---|
| **Stade de lactation** | Début de lactation | 2/5 (40%) | 3/3 (100%) | 1/1 (100%) |
| | Mi-lactation | 1/13 (7,69%) | 0 | 0 |
| | Fin de lactation | 4/12 (33,33%) | 6/10 (60%) | 4/7 (57,14%) |
| **Le numéro de lactation** | Primipares | 7/30 (23,33%) | 3/6 (50%) | 1/1 (100%) |
| | Multipares | 0 | 6/7 (85,71%) | 4/7 (57,14%) |
| **La race** | Montbéliarde | 0 | 9/11 (81,81%) | 5/8 (62,50%) |
| | Holstein | 7/30 (23,33%) | 0 | 0 |
| | Fleckvieh | 0 | 0/1 | 0 |
| | Brune de l'atlas | 0 | 0/1 | 0 |

Les résultats obtenus au niveau du Cazel en fonction du stade de lactation ne sont pas significatif (p-value=0,1891).

Au niveau de l'élevage de Lota, seuls les résultats obtenus en fonction de la race sont significatifs.

Au niveau de l'élevage de Melbou, les résultats en fonction des différents paramètres ne sont pas significatifs.

## VI . Résultats bactériologiques

### ➢ Résultat de l'identification et de la sensibilité aux antibiotiques

Sur les 21 vaches ayant des mammites subcliniques , huit souches de *S. aureus* ont été identifiées chez cinq vaches ( 23,81%) dont une est de l'élevage de Melbou et quatre autres de l'élevage de Lota.

Chez deux de ses vaches, nous avons identifié le*S.aureus* que dans un seul trayon, contrairement aux trois autres, ou le *S. aureus* a été retrouvé dans deux trayons.

Les souches obtenues sont sensibles à tous les antibiotiques testés (Tableau VII)

**Tableau VII**: Diamètres des zones d'inhibitions des *Staphylococcus aureus.*

| Antibiotique | Abréviations | SD7 | SD15 | SD10 | SD 11 | SD12 | SD35 | ST19 | ST20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Penicilline G | Péni G | 35 | 40 | 31 | 40 | 34 | 38 | 40 | 40 |
| Oxacilline | OX | 37 | 40 | 27 | 40 | 28 | 37 | 40 | 40 |
| Kanamycine | KAN | 22 | 21 | 24 | 20 | 23 | 24 | 21 | 24 |
| Gentamicine | GEN | 23 | 25 | 28 | 25 | 25 | 26 | 21 | 26 |
| Tobramycine | TOB | 22 | 24 | 28 | 23 | 27 | 26 | 23 | 27 |
| Tetracycline | TE | 31 | 29 | 41 | 29 | 40 | 35 | 32 | 33 |
| Erythromycine | EM | 29 | 28 | 34 | 26 | 34 | 32 | 30 | 32 |
| Clindamycine | DA | 27 | 29 | 36 | 26 | 31 | 30 | 32 | 32 |
| Trimethoprime+ Sulfamides | STX | 33 | 31 | 34 | 31 | 35 | 34 | 33 | 36 |
| Ofloxacine | OFX | 31 | 26 | 32 | 25 | 32 | 29 | 29 | 29 |
| Rifampicine | RA | 36 | 38 | 38 | 38 | 35 | 33 | 38 | 34 |
| Acide Fusidique | FA | 34 | 33 | 39 | 40 | 37 | 36 | 40 | 40 |

## ➢ Résultats de la recherche de la formation des biofilm

Les résultats du test au qualitatif Rouge Congo ont indiqué la formation probable de biofilm chez les 8 souches de *Staphylococcues aureus* isolées (Figure6)

**Figure 6:**Photo des colonies noires attestant de la formation de biofilm (Cliché personnel)

## ➢ Caractéristiques des vaches ayant une mammite subclinique à *Staphylococcus aureus*

Les cinq vaches ayant des mammites subcliniques *à Staphylococcus aureus* sont de race Montbéliarde, 60% (n=3) sont en début de lactation et 20% sont des primipares.

La prévalence des vaches ayant une mammite subclinique à *Staphylococcus aureus* est de 33,33% pour les vaches en début de lactation, 28,57% pour les vaches multipares et 16,67% pour les vaches de race Montbéliarde.

**Tableau VIII:**Prévalence des vaches ayant une mammite subclinique à *Staphylococcus aureus.*

| | | **Prévalence** |
|---|---|---|
| **Stade de lactation** | Début de lactation | 3/9 (33,33%) |
| | Mi-lactation | 0/13 |
| | Fin de lactation | 2/29 (6,90%) |
| **Le numéro de lactation** | Primipares | 1/37 (2,70%) |
| | Multipares | 4/14 (28,57%) |
| **La race** | Montbéliarde | 5/19 (26,32%) |
| | Holstein | 0/30 |
| | Fleckvieh | 0/1 |
| | Brune de l’atlas | 0/1 |

# *Discussion et conclusion*

L'objectif de notre présent travail est l'étude de la contribution du *Staphylococcus aureus* dans les mammites subcliniques au niveau de quelques élevages de la daïra de Souk-El-Tenine, et l'étude des différents facteurs influant l'apparition de cette infection.

Le choix du CaliforniaMastitis Test dans le dépistage des mammites subcliniques dans cette présente étude est justifié par le fait que c'est l'un des meilleurs indicateurs du taux de cellules somatiques dans le lait, c'est un test économique assurant un résultat immédiat (McFadden, 2011) cependant le test CMT ne permet pas de connaitre la nature de l'agent causal (M'Sadak, 2015).

Il ressort de notre étude que les mammites subcliniques existent dans les trois élevages étudiés. Le test CMT a révélé un taux de 41,18%. Ce taux est plus élevé que celui obtenu par Saidi en 2014 dans certaines exploitations du centre de l'Algérie. Zeghar et *al.*, en 2016 ont obtenu un taux de 22% dans les élevages de Médea. Bouzid et *al.*, ont rapporté un taux de 29,7% de mammites subcliniques dans le Nord est algérien. En revanche, Benhamed en 2014 a trouvé un taux de mammite subclinique dans la région d'Oran similaire à celui constaté dans notre étude (40,57%).

Dans notre étude, 19% des quartiers prélevés sont positifs au CMT, ce résultat est proche de celui obtenu par Aouane en 2010 qui est de 22,30% dans la région de Metidja. Zeghar et*al.*,en 2016 ont rapporté une fréquence de 48,57%

Nous notons que 71,43% des vaches multipares ont une mammite subclinique, ce résultat est proche de celui obtenu par Shyaka en 2007 à DAKAR (73%) .Gambou et *al.*, au Cameroun en 2001 ont obtenu des résultats qui montrent une augmentation du taux de cellules somatiques dans le lait en fonction du rang de lactation.

Nos résultats indiquent que la prévalence des vaches est élevée en début de lactation (66,66%) ce taux est presque identique à celui enregistré par Saxena et *al.*, 1993 en Inde (64%). Chez les vaches en fin de lactation, le CMT a indiqué la présence de mammite subcliniquechez 48,28%. Ce résultat est nettement inférieur au taux enregistré par Bouaziz, 2005 dans l'Est Algérien qui est de 73,6% et au taux enregistré par Badiuzzamanet*al.*, 2015 au Bengladesh qui est de 65,63%

Les vaches de race Montbéliarde semblent être les plus atteintes de mammite subclinique avec une prévalence de 73,68%. Tchassou, en 2009 a rapporté un taux de 59,60%

de vaches Holstein ayant des mammites subcliniques, dans notre étude 23,33% des vaches de race Holstein ont une mammite subclinique.

Dans notre étude un pourcentage d'isolement de 23,81% a été obtenu pour les souches de *Staphylococcus aureus.* Le taux enregistré dans notre étude est faible par rapport à celui obtenu au Niger par Bada-Alambedji et *al*., 2014 qui est de 38,63% et par rapport à celui obtenu par Benhamed et *al.*, 38,98% dans la région d'Oran. Gianneechini et *al*., 2002 ont enregistré un pourcentage d'isolement de *Staphylococcus aureus* de 62,8% à l'Uruguay. Un taux de 54, 4% a été rapporté dans le Sud de l'Ethiopie par Abebe., et *al* en 2016.

Les souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans notre étude sont sensibles à tous les antibiotiques testés. Il est difficile de faire une comparaison des résultats obtenus des différents travaux car les techniques utilisées diffèrent d'une étude à une autre ainsi que l'interprétation du résultat. Cependant un taux de résistance de 100% des*Staphylococcus aureus* à la Pénicilline G été rapporté par Saidi dans le centre Algérien en 2014. Turutoglu et *al.,* en 2005 ont enregistré en Turquie un taux de résistance des *Staphylococcus aureus* à la Pénicilline G de 61,1% et de 56,3% à la Gentamycine. Benhamed et*al*., en 2011 ont isolé des souches de *Staphylococcus aureus* qui sont toutes sensibles à la méthicilline par le test à l'oxacilline, ce résultat est identique à celui obtenu dans notre étude.

Les huit souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans notre étude produiraient probablement des biofilms, Marques et *al*., en 2016 à Rio de Janeiro ont enregistré le même résultat. Une autre étude au Brésil faite par Fabres-Klein et *al.,* en 2015 a rapporté un taux de 54% des *Staphylococcus aureus* productrices de Biofilm.

Le taux de mammite subclinique obtenu dans notre étude pourrait être dû à plusieurs facteurs. Au niveau de l''élevage Cazel, le taux de mammite est de 23,33%, il est à noter qu'au niveau de cet élevage, un programme de suivi sanitaire efficace est appliqué, La traite se fait dans de bonnes conditions d'hygiènes au moyen d'une machine à traire dont les gobelets sont désinfectés avant et après chaque traite, les premiers jets de lait sont éliminés avant la traite. Les animaux reçoivent une alimentation équilibrée et de bonne qualité et vivent en stabulation libre. Le Cazel est muni d'un bon système de gestion des déchets réduisant ainsi les risques de pollution de l'environnement. Il est important de savoir également que le personnel assurant la gestion de l'élevage a une formation adaptée.

Au niveau de l'élevage de Lota, le taux de mammite subclinique est de 69,23%, ce taux pourrait être expliqué par le fait que les conditions d'hygiène soient défaillantes, les animaux vivent en promiscuité en stabulation entravée, ce qui facilite la transmission de germes entre les vaches. La machine à traire n'est pas désinfectée avant et après la traite, le sol n'est pas quotidiennement nettoyé des déjections et urines des animaux. Les prescriptions du vétérinaire ne sont pas respectées. Au niveau de l'élevage de Melbou, un taux de 62,50% de mammite subclinique a été enregistré, la traite se fait manuellement sans port de gant, les vaches vivent en stabulation libre, la mamelle est souvent souillée par les matières fécales et le nettoyage se fait rarement. Au niveau des deux élevages de Lota et Melbou, les premiers jets de lait ne sont pas éliminés avant la traite.

Dans cette étude la prévalence élevée des vaches en début de lactation pourrait être expliquée par la baisse de l'immunité juste après la mise bas provoquant ainsi une sensibilité de la glande mammaire. Les vaches multipares sont plus sujettes aux mammites subcliniques, ceci est dû à la perte de l'élasticité du sphincter du trayon, facilitant ainsi le passage de germe.

La sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques testés dans notre étude pourrait être expliquée par le non usage des antibiotiques à titre préventif en période de tarissement dans les élevages étudiés.

La mammite subclinique représente un risque primordial dans les élevages bovins laitiers, elle engendre des pertes économiques très importantes dans l'industrie laitière, le processus inflammatoire au niveau de la glande mammaire influence sur la synthèse de lait et engendre une diminution de sa qualité et de sa quantité. Ajouté à cela, c'est l'une des maladies les plus couteuses car elle est fréquente et le cout du traitement est élevé (M'sadak et *al*., 2014). Sur le plan médical, il est à noter que la mammite peut nuire au bien être de l'animal et dans certains cas provoquer sa mort (Hanzen, 2008-2009).

La présence de germes dans le lait peut présenter un risque pour la santé publique. Certains germes tels *Staphyococcus aureus* peuvent provoquer des toxi-infections. Le *Staphylococcus aureus* est l'un des germes les plus rencontrés lors de mammites subcliniques, certaines de ces souches sont toxinogènes provoquant ainsi une toxi-infection surtout lors de mauvaise conservation du lait cru. La maladie se manifeste par des vomissements répétitifs, de courte durée, elle est bénigne chez l'adulte mais peut être fatal chez les enfants ou les personnes âgées. (Brisabois et *al*, 1997)

La mammite est l'une des principales causes d'utilisation des antibiotiques au sein des élevages bovins, la mauvaise utilisation des antibiotiques et le non respect des délais d'attente après le traitement, conduisent à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. Ces résidus constituent d'un coté, un facteur limitant pour la production de yaourt car ils inhibent la fermentation, d'un autre coté, ils représentent un risque toxicologique potentiel pour le consommateur et conduisent au développement de bactéries résistantes aux antibiotiques. (Mensah et *al.*, 2014).

Dans notre étude, le Californiamastitis test, nous a permis de dépister l'infection mammaire subclinique chez 41,18% des vaches. La recherche bactériologique a inidiqué la présence de mammites subcliniques à *Staphylococcus aureus* chez 23, 81% des vaches.

Les mammites subcliniques restent une menace au sein de nos élevage et ce à cause de l'absence d'un programme de lutte efficace et d'un suivi sanitaire régulier des vaches laitières. A l'issue de ce travail nous recommandons :

- Le respect de l'hygiène de la traite
- La mise en place de systèmes appropriés pour la gestion des déchets
- Le respect des règles de construction des bâtiments d'élevage.
- La bonne gestion de l'alimentation et de l'abreuvement.
- L'utilisation régulière du CMT afin de permettre un dépistage précoce.
- Le traitement en période de tarissement des vaches ayant une mammite.
- La réforme des vaches incurables afin de réduire le risque de transmission.

Comme perspectives, nous proposons de :

- Rechercher les autres germes impliqués dans les mammites.
- Evaluer l'évolution des mammites en fonction du temps.
- Evaluer l'efficacité d'un traitement au cours du tarissement
- Recherche les autres facteurs de virulences de *Staphylococcus aureus* lors de mammite et utiliser des méthodes de biologie moléculaire.

# A


1. **ABEBE R, HATIYA G, ABERA M, MEGERSA B, ASMARE K, (2016).**Bovine mastitis : prevalence, risk factors and isolation of Staphylococcus aureus in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. BMC Veterinary Research (2016) 12:270 DOI 10.1186/s12917-016-0905-3.
2. **AMADOU T, HAMIDOU H, BALE B, DAVID W-R, NONGASIDA Y et MOUMOUNI S, (2004)**Prévalence globale des pathologies majeures liées à la production laitière bovine en système d'élevage intra-urbain à Hamdallaye (Ouagadougou) Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2004 8(1), 3–8.
3. **AOUANEN ,(2010):** étude de la prévalence des mammites sub-cliniques dans quelques régions de la Mitidja. Thèse de magistère en sciences vétérinaires, Ecole Nationale supérieure Vétérinaire (Alger) 98 pages.
4. **ARNOLD M, (2011)** *Staphylococcus aureus* mastitis. UK Veterinary Diagnostic Laboratory, and Jeffrey Bewley, Animal and Food Sciences.


# B


5. **BADA ALAMBEDJI (R),KANE Y, ISSA IBRAHIM A-I, VIAS F-G et ARAKPO A-J (2005)** Bactéries associées aux mammites subcliniques dans les élevages bovins laitiers urbains et périurbains de Niamey, (Niger). Revue Africaine de Santé et de Productions Animales © 2005 E.I.S.M.V. de Dakar
6. **BADIUZZAMAN1 M, SAMAD M-A, SIDDIK S-H-M-F , ISLAM M-T et SAHA S, (2015).** Subclinical mastitis in lactating cows: comparison of four screening tests and effect of animal factors on its occurrence. Bangl. J. Vet. Med. (2015). 13 (2): 41-50
7. **BAUDETH , BOSSUET I, COULON R, FULBERT L, HUNEAU T, LEFEVRE ET, LEISEING E, PELLETIER E, ROUSSEL P , THOMAS B, et TOCZE C, (2009):** Mammites, Cellules, tous les conseils pour lutter efficacement. Chambre régionale d'agriculture des Pays de la Loire pour le GIE Elevage - Conception : D. Benoist Angers
8. **BENHAMED N, (2014).** Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru dans la région d'Oran Algérie : Etude du profil moléculaire virulent des Staphylococcus aureus impliqués dans les mammites bovines**.** Thèse de doctorat de 3ème cycle. Université d'Oran
9. **BJORK S, (2013).** Clinical and subclinical mastitis in dairy cattle in Kampala, Uganda. ISSN 1952-8697
10. **BOGNI C, ODIERNO L**, **RASPANTI C, GIRAUDO J, LARRIESTRA A, REINOSO E, LASAGNO M, FERRARI M, DUCROS E, FRIGERIO C, BETTERA S, PELLIGRINO, FROLA M, DIESER I ET VISSIO C**, (**2011)**. War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens.
11. **BOSQUET G, GOURREAUJ , GUIOUILLIER L, LABBE J , REMY D , SALAT O , SCHMITT- VAN DE LEEMPUT, VIN E (2002)** Les mammites hygiène, prévention, environnement. Groupe France Agricole 256 pages.

*12.* **BOUAZIZ O, (2005)**. Contribution à l'étude des infections intramammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien. Thèse de doctorat, université de Constantine, département des sciences vétérinaires. 235 pages

*13.* **BOUZIDR , HOCINE A, MAIFIA F, REZIG F , OUZROUT R et TOUATI K (2011) :** Prévalence des mammites en élevage bovin laitier dans le Nord-Est algérien. Livestock Research for Rural Development. Volume 23, Article 73. Centre Universitaire El Tarf, El Tarf, Algérie.

*14.* **BRADLEY A-J etGREEN M-J, (2004).** The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention. Vet Clin Food Anim 20 (2004) 547–568

*15.* **BRADLEY A-J, (2002)**. Bovine mastitis ; an evolving desease. The veterinair journal.

*16.* **BRISABOIS A, LAFARGE V, BROUILLAUD A, BUYSER M, COLLETTE C, GARIN-BASTUJI B, THOREL M-F, (1997)**. Les germes pathogènes dans le lait et les produitslaitiers : situation en France et en Europe. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.,* 16 (1), 452-471

**C**

---

*17.* **CARRILLO-CASAS E-M et MIRANDA MIRALOS S-E (2012).** Bovine mastitis pathogène :Prévalence and effect on Somatic cell count. Milk Production – An Up-to-Date Overview of Animal Nutrition, Management and Health.

**D**

---

*18.* **DESCOTEAUX L, (2004)**la mammite clinique stratégie d'intervention, centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec

*19.* **DONLAN R-M,( 2002).** Microbial life on surfaces. Emerging Infectious Diseases Vol. 8, No. 9, September 2002 farms of Northern Ethiopia. Trop Anim Health Prod (2012) 44:1765–1771

**G**

---

*20.* **GAMBO Het AGNEM ETCHIKE C,( 2001)**. Dépistage de mammites subcliniques chez des vaches Goudali en lactation au Nord Cameroun Revue Élev. Méd. vét. Pays trop., 2001, 54 (1) : 5-10.

*21.* **GARCIAA ,(2004).** Contagious vs environmentalmastitis. College of agriculture and biological sciences. Dairy science.

*22.* **GIANNEECHINI R, CONCHA C, RIVERO R, DELUCCI I, et LOPEZ J-M, (2002).** Occurrence of Clinical and Sub-Clinical Mastitis inDairy Herds in the West Littoral Region in Uruguay. Acta vet. scand. 2002, *43*, 221-230.

*23.* **GOURREAU, (2008).** Les maladies des bovins Edition France agricole, 4 ème édition. 802 pages

# H

24. **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 Northen Ethiopia. Trop Anim health prod 44:1765-1771
25. **HANZEN C, (2009-2010)**. La pathologie infectieuse de la glande mammaire. Etiopathogénie et traitement. Approche individuelle et de troupeaux. Cours en ligne
26. **HANZEN C, (2008-2009)**Propédeutique de la glande mammaire, sémiologie et diagnostic individuel et de troupeau. Cours en ligne
27. **HASSAN, USMAN, KALEEM, OMAIR, KHALID et IQBAL, (2011).** Evalutaion of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. Departement of microbiology. National University of Science and Technology, Islambad , Pakistan.
28. **HOMAN et WATTIEUX, (1996)**. Lactation et récolte du lait. Université du Wisconsin à Madison, USA. Chapitre 5 page 56

# L

29. **LEVESQUE P, (2006)** Classification des mammites. Producteur de lait arepeqois. ITA de la Pocatière.

# M

30. **M'SADAK Y et MGHIRI L, (2015 )** Study of the parameters of cattle breeding aboveground and of the mammary health status in the semi-arid littoral (Tunisia). Revue Agriculture. 09 (2015) 32 – 41.
31. **M'SADAK Y, MAKHLOUFM et HAMEDI ,(2014).** Maintenance of the running conditions of the milking machines in pot for cows in Sousse region (Tunisia). Revue Agriculture. 07 (2014) 20 – 29.
32. **MARQUES V-F, MOTTAA C-C, SOARESA B-D, DE MELOA D-A, COELHOB S, SILVA COELHOA I, BARBOSA H, DE SOUZAA M, (2016).** Biofilm production and beta-lactamic resistance in Brazilian *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis. Brazilian journal of microbiology 48 (2017) 118-124
33. **McFADDEN M, (2011)**. California Mastitis Test and Milk quality. Michigan Dairy review

# O

34. **OVIEDO-BOYSO, VALDEZ-ALARCO´N, CAJERO-JUA´REZ, OCHOA-ZARZOSA, LOPEZ-MEZA, ALEJANDRO BRAVO-PATINO et BAIZABAL-AGUIRRE, (2006).** Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. Journal of Infection (2007) 54, 399-409.

# P

35. **POUTREL B, (1983)**. La sensibilité aux mammites : Revue des facteurs liés à la vache. Annales de recherchesvétérinaires, INRA Editions, 1983, 14(1) pp.89-104
36. **PRENAFETA A, (2014).** General aspects of biofilm development and implication in staphylococcal ruminant mastitis: a current literature review R&D Department, HIPRA, Amer (Girona), Spain.

# R


37. **RIFFON R, SAYASITH K, KHALIL H, DUBREUIL P, DROLET M et LAGACE J, (2001).** Development of a rapid and sensitive test for identification of major pathogens in bovin mastitis by PCR.
38. **ROUX A, CHIGO J-M, (2006 )**. Bacterial biofilms. Communication Bull Acad vet France.
39. **SAIDIR , (2014).** Enquête épidémiologique sur les mammites bovines dans certains élevages du centre l'Algérie. Thèse de doctorat, université de Blida


# S


40. **SAXENA R-K, DUTTAG N , BORAH R et DURAGOHAIN J (1993)**Incidence and aetiology of bovine subclinical mastitis, India Veterinary Journal 70, 1079-1080
41. **SEIXAS R, VARANDA D, BEXIGA, TAVARES Let OLIVEIRA M, (2015)** Biofilm-formation by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* isolates from subclinical mastitis in conditions mimickingthe udder environment. Polish Journal of Veterinary Sciences Vol. 18, No. 4 (2015), 787–792
42. **SENOUSSI A, HAILI Let MAIZ H-A-B, (2010)**. Situation de l'élevage bovin laitier dans la région de Guerarra (Sahara septentrional Algérien)..LivestockResearch for Rural Development 22 (12) 2010.
43. **SHARMA N, SINGH N-K, BHADWAL M-S, (2011)**Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. Division of Veterinary Clinical Medicine and Jurisprudence, SKUAST-J, India
44. **SHYAKA A, (2007)**. Diagnostic des mammites cliniques et subcliniques en élevage bovin laitier intensif (cas de la ferme de Mayembam). Thèse pour le grade de docteur en médecine vétérinaire.


# T


45. **TCHASSOU T-K, (2009).** Enquête épidémiologique sur les mammites subcliniques dans les élevages bovins laitiers périurbains à DAKAR. Thèse de fin d'étude en médecine vétérinaire.
46. **TURUTOGLU H, ERCELIK S et OZTURK D, (2006).** Antibiotic resistance of *staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis. Bull Vet Inst Pulawy 50, 41-45, 2006.


# V-W-Z


47. **VIGUIER, ARORA, GILMARTIN, WELBECKet O'KENNEDY,( 2009).** Mastitis detection: current trends and future perspectives. Biomedical Diagnostics Institute, National Centre for Sensor Research, Dublin City University,
48. **WAES, VAN BELLEGHEM (1969)**. Influence de la mammite sur la qualité technologique du lait et sur la qualité des produits laitiers.
49. **ZEGHAR L, (2016).** Contribution à l'étude des mammites subcliniques des vaches laitières élevées dans la région de Tablat, Wilaya de Médéa. Thèse de fin d'étude en médecine vétérinaire.

## Résumé

La présente étude se propose d'évaluer la fréquence des mammites subcliniques dues *Staphylococcus aureus* dans la région de Souk-El-Tenine et d'étudier leur profil vis-à-vis des antibiotiques ainsi que leur capacité à produire des biofilms. Le Calfifornia Mastitis Test a été utilisé, dans un premier temps, afin de dépister l'infection mammaire subclinique, puis, dans un second temps, nous avons recherché le *Staphylococcus aureus* dans le lait des vaches atteintes de mammite subclinique après quoi nous avons testé plusieurs antibiotiques et utilisé un test qualitatif qui est le rouge Congo afin de mettre en évidence la production de biofilm.

Cinquante et une vaches provenant de trois élevages différents ont été prélevées lors de notre étude. Le test CMT révèle que **41,18%** (n=21) de ces vaches sont positives au test avec une prévalence de **66,66%** pour les vaches en début de lactation, une prévalence de **71,43%** pour les vaches multipares et de **73,68%** pour les vaches de race Montbéliarde. A partir du lait des 21 vaches ayant une mammite subclinique, nous avons isolé huit souches de *Staphylococcus aureus* (**23,81%**) chez cinq de ces vaches. Les souches de *Staphylococcus aureus* isolées sont toutes sensibles aux antibiotiques testés et produisent probablement des biofilms.

**Mots clés** : Mammite subclinique, CaliforniaMastitis Test, *Staphylococcus aureus.* Souk-El-Tenine

## Abstract

The present study aimed to evaluate the occurrence frequency of subclinical mastitis caused by Staphylococcus aureus in the region of Souk-El-Tenin and also to study their sensibility to antibiotics and their ability to produce biofilms. The Calfifornia Mastitis Test was first used to screen for subclinical mammary infection, secondly, we looked for Staphylococcus aureus in the milk of cows with subclinical mastitis, after what we tested several Antibiotics and used a qualitative test that is Congo Red to highlight biofilm production.

Fifty-one cows from three different farms were sampled during our study. The CMT test revealed that **41.18%** (n = 21) of these cows were positive for the test with a prevalence of **66.66%** for cows in early lactation, a prevalence of **71.43%** for multiparous cows and **73.68%** for Montbéliarde cows. From the milk of 21 cows with subclinical mastitis, eight strains of Staphylococcus aureus (**23.81%**) were isolated from five of these cows. The strains of Staphylococcus aureus isolated are all susceptible to the antibiotics tested and probably produce biofilms.

**Key words** : Subclinical mastitis, California Mastitis Test, *Staphylococcus aureus* ,Souk-El-Tenine