

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية لشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العلي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة ابن خلدون تيارت

UNIVERSITE IBN KHALDOUN TIARET

معهد علوم البيطرة

INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES

مصلحة الصحة الحيوانية

DEPARTEMENT DE SANTEANIMALE



Mémoire fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master complémentaire

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Vétérinaires

Présenté par :

Bentabet Menel .

Bourada Fatima Zohra.

Thème:

**EVALUATION DES CARACTERES DU LAIT CRU ET ETUDE DE
L'ANTIBIORESISTANCE DES SOUCHES BACTERIENNES
ISOLEES (STAPHYLOCOCCUS AUREUS) DU LAIT
MAMMITEUX.**

Jury:

Président : Akermi Amar
Examineur : Amirat Mokhetar
Encadreur : Adnane Mounir

Grade:

MCA
MCA
MCA

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements :

Nous remercions le bon Dieu tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la santé et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

A la mémoire de notre chère professeure **GHAZI Kheira**, nous savons qu'elle aurait été très contente pour nous, que dieu ait ton âme dans sa sainte miséricorde.

Notre reconnaissance chaleureuse à notre encadreur docteur **Adnane Mounir**, pour les conseils précieux, les encouragements, et les directives éclairées qu'il avait prodigués à notre regard dans l'élaboration de ce mémoire dans des conditions convenable.

Nous adressons nos sinceres remerciements pédagogiques de l'institut des sciences vétérinaire Ibn khaldoune-Tiaret-

Nous remercions particulièrement nos chers parents pour leurs soutien et sacrifices.

Dédicace :

Merci a Dieu le tout puissant de m' avoir donné le courage de travail.

Je dédie chaleureusement ce travail à **MES PARENTS**

Mon chère père * **ABI** *

Mon exemple de force, de patience et de défi que j'aime et que je respecte beaucoup

Ma chère mère * **OMI** *

Ma source de tendance et de sécurité, que dieu les protège pour leur soutien moral pendant tout mon parcours.

Mes héros : * **ILYÈS** * et * **MOHAMED** *

Mes chères sœurs : * Sarra* et * soumia *

Mes amoureux neveux * mohsin * *djaouad * * abde monaim* * abed *

A toute ma famille

A mon binôme * bentabet menel *

A tous mes amis proches et mes collègues.

Merci beaucoup pour votre amour .

Dédicace :

En premier lieu, je tiens à remercier mon bon Dieu qui m'a donné la force pour terminer ce travail .

Avec un très grand amour et beaucoup de respect je dédie ce modeste travail à ceux ont tellement sacrifié pour moi , ce qui m'ont donné tout sans recule , ceux qui méritent toute mes reconnaissances à très chers parents que dieu les protège.

A mes chères sœurs **Hadjer** et **Chaimaa**.

a mon frère, mon trésor **Mohammed Amine**.

A mes deux anges neveux **Louey** et **Rayane**.

A mon très cher **Yacine** .

A ma meilleure **Zaoui Affaf**.

A mes copines ; **Amel, zineb , Imane , Nacera et Marwa**.

A mes collègues : **Adel** et **Mounir**.

Spécial dédicace a ma collègue de travail : **Fatima Zohra**.

Résumé:

L'étude de l'antibiorésistance de *Staphylococcus aureus* isolés à partir des laits mammites individuels, a été faite sur une souche à partir d'une vache subit d'une mammite clinique . Après isolement et identification des souches, des antibiogrammes ont été réalisées par la méthode de diffusion sur gélose.

Sur l'ensemble des isolats, presque la totalité des souches isolée s'est avérée résistante à pénicilline, aussi une résistance significative a été observée pour amoxicilline +acide clavulanique.

A l'opposition les sensibilités les plus marquées ont été constatées pour la Gentamycine .

Mot clé : vache, Laits mammites individuels. *Staphylococcus aureus*. Antibiorésistance.

الملخص:

: إن دراسة مقاومة المضادات الحيوية للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من حليب بقرة تعاني من إتهاب الضرع بعد العزل والتعرف على السلالات .

اجري الانتبيوغرام عن طريق النشر على الجلوز . تقريبا كل السلالات المعزولة في المجموعة المدروسة من المؤكد انها مقاومة للاموكسيسيلين + حمض كلافلانيك

في المقابل نلاحظ حساسية جد واضحة للجونتاميسين

مفاتيح البحث: البقرة - حليب من إتهاب الضرع- المكورات العنقودية الذهبية- المضادات الحيوية المقاومة

Sommaire

Introduction :	1
1) Principaux facteurs prédisposant	4
2) Microbes de l'extérieur de la mamelle	5
2.1 Surface des trayons	5
2.2 Matériel :	5
2.3 Environnement :	5
3) Microorganismes utiles	6
4) Microorganismes contaminants	7
4.1 Flore pathogène	7
4.2 Flore d'altération	7
5. Principales activités des microorganismes dans le lait :	9
5.1 L'acidification :	9
5.2 La protéolyse :	9
5.3 La lipolyse :	9
5.4 La production de gaz :	10
5.5 Production d'alcool :	10
5.6 Production de polysaccharides ou de polypeptides:	10
6. Altération du lait:	11
6.1 Phase de latence (bactériostatique):	11
6.2 Phase d'acidification:	11
6.3 Phase de neutralisation:	11
6.4 Phase d'alcalinisation:	11
7. Hygiène de la traite:	11
7.1 Trayeur:	11
7.2 Animal:	12
Chapitre 02 : Les mammites	15
Définition	15
1 . Etiologie	15
2. Pathogénie	15
2.1 Pénétration des germes dans la mamelle	15
3. Classification clinique des mammites	17
3.1 Mammite clinique :	17
3.2 Mammite sub-clinique :	17

4. Diagnostic.....	19
4.1 Diagnostic individuel :.....	19
5. Traitement :	21
5.1 Antibiotiques:	21
5.2 Comment traiter?	22
5.3Remarque:.....	23
L'antibiorésistance chez les staphylococcus aureus	23
1. Définition.....	24
2. La résistance aux antibiotiques :.....	24
2.1 naturelle :.....	24
3. Résistance aux antibiotiques des S. aureus.....	25
4. Méthodes pour limiter les antibiorésistances :	26
2.2 Pourcentage de résistance aux antibiotiques de <i>Staphylococcus aureus</i> :.....	38
2.3 Sensibilité et résistance du résultat :.....	40
3.Discussion.....	41
Interprétation des résultats :.....	41
Conclusion.....	42

Liste des tableaux :

- **Tableau 01:** Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).....04
- **Tableau 2:** Germes contaminant le lait cru (Jakob et al. 2009).....07
- **Tableau 03 :** Les principales contaminations du lait (Michel, Hauwuy et al, 2001).....08
- **Tableau 04:** Tableau récapitulatif des règles pratiques d'hygiène de traite (Charron, 1986).13
- **Tableau 05 :** Germes responsables de mammites et leur réservoir primaire (modifié d'après QUINN *et al* 1994)18
- **Tableau06:** Pourcentage de résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus*.38
- **Tableau 07 :** Sensibilité et résistance du résultat de l'antibiotique sur la souche de *Staphylococcus aureus*.41

Liste des figures :

- **Figure 01**: Evaluation de la propreté des vaches dans la ferme.....06
- **Figure 02** : Risque de contamination du lait pendant la traite.12
- **Figure 03** : Coupe longitudinale de l'extrémité du trayon chez la vache (d'après BARONE 1978)16
- **Figure 04**: les principes de la défense du trayon.17
- **Figure 05**:l'agent pathogène en cas des mammites.19
- **Figure06** : prélèvement du *Staphylococcus aureus* sur le milieu de Chapman (laboratoire ISVT)35
- **Figure 07** : une souche SASM présentant une multi résistance.38
- **Figure 08**: résultante de réaction d'antibiotique sue la souche de *Staphylococcus aureus*.39
- **Figure09** : résultante de réaction d'antibiotique sue la souche de *Staphylococcus aureus*.40
- **Figure10** : résultante de réaction d'antibiotique sue la souche de *Staphylococcus aureus*.40

Introduction

Introduction :

La mammite est une inflammation de la glande mammaire d'origine infectieuse. Ainsi, suite à l'envahissement des quartiers par les micro-organismes, les cellules phagocytaires ou leucocytes polynucléaires et neutrophiles affluent dans la mamelle. L'infection se traduit parfois par des signes cliniques locaux tels que la présence de grumeaux dans le lait ou un quartier dur, gonflé et douloureux.

Les mammites bovines constituent un facteur pathologique dans les élevages laitiers où elles occasionnent des pertes économiques considérables, en raison de la chute de la production laitière, des pertes dans l'industrie laitière ainsi que les coûts thérapeutiques et prophylactiques des animaux (**Faye et al. 1994**).

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de **3** milliards de litres par an. Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale. Acteur clé de l'industrie agroalimentaire, la filière lait connaît une croissance annuelle de **8%**. Avec un taux de collecte inférieur à **15%**, cette filière reste, cependant, fortement dépendante de l'importation de poudre de lait (**Silait, 2008**).

La qualité microbiologique du lait cru suscite l'intérêt des différents acteurs de la filière. D'un point de vue consommériste, la qualité hygiénique préoccupe le consommateur qui en devient de plus en plus exigeant. Le lait cru et les produits qui en découlent doivent apporter des garanties sanitaires car la consommation de ces derniers peut présenter un danger pour la santé publique. D'un point de vue technologique, la qualité et la typicité des produits laitiers sont à l'origine de la flore du lait cru.

C'est Dans cette perspective que s'inscrit notre travail qui a pour objectif :
Evaluation de l'antibiorésistance des souches de *Staphylococcus aureus* et *Echerichia Coli* isolées du lait mammite.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre 01 :
Microbiologie du lait cru.

Chapitre 01 : Microbiologie du lait cru.

INTRODUCTION :

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10³ germes/ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques mais aussi *streptocoques lactiques* (*Lactococcus* et *Lactobacilles*). Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées "Lacténines" mais leur action est de très courte durée, environ 1 heure (Lemire, 2007).

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade. Ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire.

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : les microorganismes indigènes ou originels et les microorganismes contaminants. Les microorganismes contaminants sont subdivisés en deux sous-classes : microorganismes d'altération et microorganismes pathogènes (Guiraud, 1998).

1) Principaux facteurs prédisposant sont :

- La traite :

Une mauvaise hygiène de la traite ; un réglage défectueux de la machine à traire favorisant la pénétration des microbes, les blessures occasionnées par la machine à traire.

- Les conditions de vie :

Mauvaise hygiène du logement, inconfort. La rétention lactée et tout stress susceptible de diminuer la résistance naturelle de la mamelle.

Plus la mammite n'est grave, plus la composition du lait se rapproche de celle du plasma sanguin. Le taux butyreux diminue de même que les triglycérides, alors que le taux de cholestérol augmente. La proportion des protéines solubles (immunoglobulines, sérumalbumines) augmente et celle des caséines diminue (Dillon et Berthir, 1997).

Tableau 01: Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)

Microorganismes.	Pourcentage (%)
Micrococussp	30-90
Lactobacillus	10-30
Streptococcus ou Lactococcus	< 10
Gram négatif	<10

2) Microbes de l'extérieur de la mamelle :

2.1 Surface des trayons :

Entre les traites, les trayons sont en contact avec le milieu extérieur : Lieux de couchage et pâture qui va les contaminer. Les microbes sont très nombreux, les bons comme les mauvais.

Les plus fréquents qui font l'objet d'une recherche dans le lait sont : les Butyriques, les Coliformes, les *Listeria* et les *Salmonelles*. Ils passent dans le lait pendant la traite. La maîtrise de ces microbes se fait par l'hygiène des bâtiments et l'hygiène des trayons (**Lemire, 2007**).

Naturellement présents à l'intérieur des trayons, les staphylocoques vont profiter d'une dégradation de la peau (gerçure, plaie, croûte...) pour se multiplier de façon importante. Ils passent dans le lait pendant la traite. La maîtrise des Staphylocoques passe par le maintien en bonne santé de la peau des trayons (**Ouazzani et al. 2014**).

2.2 Matériel :

Après le traite, des résidus de lait vont demeurer sur tout le matériel ayant servi à la traite, au transport, et au stockage du lait. Ces résidus, surtout la matière grasse, les protéines, les minéraux, s'ils ne sont pas éliminés par le nettoyage, permettront aux différents microbes présents de trouver tout le nécessaire pour se multiplier (nourriture, humidité, chaleur) (**Srairi et al. 2005**).

Dans un milieu insuffisamment nettoyé les microbes passent dans le lait, surtout les bons mais aussi les indésirables (Coliformes) et des pathogènes (*Listeria*, *E. coli*, staphylocoque). Les microbes passent dans le lait à chaque traite. Pour les maîtriser il faut avoir une méthode efficace de nettoyage et un matériel propres (**Dillon et Berthir, 1997**).

2.3 Environnement :

Le milieu dans lequel évoluent les vaches est très riche en microbes, les bons comme les indésirables et les pathogènes. Dans l'eau on ne peut trouver que de mauvais microbes : *les Coliformes, Listeria, les Salmonelles et Les Pseudomonas...* plutôt en faible quantité.

Ces microbes passent dans le lait directement par le matériel et les trayons lavés avec cette eau et indirectement par les bouses des vaches ayant bu cette eau (**Dillon et Berthir, 1997**).

La maîtrise de cette contamination passe par l'entretien des captages, des points et par le traitement d'eau. Dans les fourrages et les litières, on trouve les bons microbes qui sont dominants, mais si leur récolte et leur conservation ont été mal réalisées : Présence de terre, excès d'humidité ou développement des moisissures... les mauvais microbes vont alors se multiplier tel que *les Butyriques et Listeria* (**Srairi et al. 2005, Yennek, 2010**).

Ces microbes passent dans le lait indirectement par les bouses des vaches qui mangent ces aliments et indirectement par l'air aspiré par les manchons trayeurs au moment de la traite. La bouse, partout présente dans les lieux de vie des vaches (couchage, alimentation, aire d'exercice, traite...), contient

d'autant plus de mauvais microbes citons *les Butyriques, les Coliformes, E. coli, les Salmonelles*, que les aliments consommés par les vaches sont mal conservés et dégradé.

Ces microbes de bouse passent dans le lait directement quand le faisceau trayeur tombe sur un milieu de traite souillée, et indirectement, par l'intermédiaire des trayons mal nettoyés (Claude et Champagne, 1998). La maîtrise de ces microbes passe par de bonnes pratiques dans la conduite des chantiers de récolte des aliments et dans la conduite du bâtiment pour obtenir des animaux, des abreuvoirs, des lieux de traite propres (Dillon et Berthir, 1997).



Figure 01: Evaluation de la propreté des vaches dans la ferme.

3) Microorganismes utiles :

Elle fait partie de la flore normale du lait et se caractérise par son aptitude à fermenter le lactose avec production d'acide lactique et donc, abaissement du **pH**. Les ferments lactiques laitiers constituent un groupe diversifié de bactéries qui ont néanmoins un certain nombre de caractéristiques communes : elles sont à Gram positifs, catalase négatifs, anaérobies facultatifs ou micro-aérophiles et hétérotrophes (Claude et Champagne, 1998). L'ensemble de ces caractères précieux permet aux bactéries lactiques un

développement plus rapide que les espèces considérées comme nuisibles (SaiedKourdar et Boudabbous, 1994).

Très peu d'espèces résistent à la pasteurisation basse (63°C pendant 30 mn). Elles produisent des substances inhibitrices et antibiotiques telles que la nisine, la « diplococcine », et « l'acidophine » qui sélectionnent les bactéries non lactiques au profil des bactéries lactiques.

Parmi les bactéries lactiques ayant comme habitat le lait, nous avons le genre *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Aerococcus* (Luquet et Carrieu, 2005).

4) Microorganismes contaminants :

Elle est composée de la flore pathogène et de la flore d'altération.

4.1 Flore pathogène :

Elle fait partie de la flore contaminant du lait. Les bactéries pathogènes pour l'homme peuvent être présentes dans le lait cru, ou dans les produits laitiers qui en dérivent. Elles sont capables de provoquer des malaises chez les personnes qui consomment ces produits (Vignola, 2002). Les bactéries les plus importantes de cette flore pathogène sont le plus souvent mésophiles et les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont :

Salmonella, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei* et certaines moisissures (Benhedane, Bachtarzi, 2012 ; Euzéby, 2003 et Thieulon, 2005).

4.2 Flore d'altération :

Incluse dans la flore contaminant, la flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et réduira la vie des produits. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. L'un n'exclut pas l'autre.

Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont :

Pseudomonas sp, *Proteus* sp, les coliformes soit principalement les genres : *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulées telles que *Bacillus* sp, *clostridium* sp et certaines levures et moisissures (Richard, 1990).

Tableau 2: Germes contaminant le lait cru (Jakob et al. 2009)

Sources de contamination		Psychrotrophes
Germes Gram positif		
Germes sporulés aérobie	Terre, poussière, foin (très répandu)	Certaines espèces
Germes sporulés anaérobies (<i>Clostridies</i>)	silage, fourrage vert en fermentation, boue	Non
<i>Entérocoques</i>	Fèces, résidus de lait	Non
<i>Staphylocoques</i>	Peau, muqueuses	Non

<i>Microcoques</i>	Peau, résidus de lait	Certaines espèces
Bactéries propénoïques	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage	Non
Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses	Non
Bactéries corynéformes	Peau, sol	Certaines espèces
Germes Gram négatifs		
<i>Coli bactéries (E. coli)</i>	Fèces, eaux usées	Non
<i>Entérobactéries</i>	Plantes, fèces, eaux usées	Certaines espèces
<i>Pseudomonas</i>	Eau, sol (très répandu)	Oui
<i>Alcaligenes, Flavobacterium, etc...</i>	Eau, sol (très répandu)	Oui
<i>Levures</i>	Sol, plantes, résidus de lait (très répandues)	Oui

Tableau 03 : Les principales contaminations du lait (Michel, Hauwuy et al, 2001).

Etapes	Dangers	Causes
Ferme	Contamination fécale : <i>E. coli, Salmonella, Clostridium</i>	Transmission par les mains du trayeur, contamination par l'animal lors de la traite par la queue et les éclaboussures quand le seau est laissé près des animaux
	Contamination par les germes de l'environnement : flore psychotrope (<i>Listeria, Pseudomonas</i>) et des <i>Entérobactéries</i> , levures et moisissures	Lait laissé à l'air libre durant la traite
	Multiplication des bactéries sur le matériel de traite	Nettoyage et désinfection inefficaces du matériel et/ou mauvais séchage
	Contamination par des bactéries pathogènes : <i>Staphylococcus aureus, Streptococcus, Listeria, Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium bovis, Brucella, E.coli.</i>	Animaux porteurs sains : <i>Mycobacterium, Brucella</i> Animaux atteints de mammite : <i>Staphylococcus, E coli</i> Homme : <i>Staphylococcus, Streptococcus</i> Environnement : <i>Listeria</i>
	Contamination par des résidus Chimiques	Non-respect du temps d'attente des spécialités vétérinaires
	Inhibition de la fermentation lactique : problèmes de transformation du lait	Collecte du lait des animaux traités par des antibiotiques
Transports	Accroissement des flores microbiennes	Temps de transport trop long, à des températures trop élevées
	Contamination par le matériel	Nettoyage et désinfection inefficaces du matériel et/ou mauvais séchage
Centre de collecte	Contamination croisée	Nettoyage et désinfection inefficaces du Matériel Absence ou mauvaise qualité contrôle de la qualité des laits avant mélange
	Contamination	Humaine Contact mains lait lors des

		Prélèvements
	Contamination par des germes de l'environnement	Utilisation de l'eau contaminée pour le nettoyage du matériel
	Développement de flore psychrotrophe: synthèse d'enzymes protéolytiques thermostables	Température des tanks réfrigérés mal régulée et durée de stockage trop longue
	Développement de flore coliforme	Absence de réfrigération
	Lipolyse	Remplissage manuel des tanks par le haut
Laiterie	Contamination croisée	Absence ou mauvaise qualité de contrôle de la qualité des laits avant Transformation
	Ré-contamination par des germes de l'environnement	Mauvaise hygiène du conditionnement
	Persistance des microorganismes	Absence de traitements thermiques, ou traitements mal réalisés : non-respect

5. Principales activités des microorganismes dans le lait :

Les activités métaboliques des microorganismes présents dans le lait peuvent avoir des effets positifs ou négatifs sur l'apparence, l'odeur, la consistance ou la texture et le goût des produits laitiers. Parmi ces activités on peut citer l'acidification, la protéolyse, la lipolyse, la production de gaz (Richard, 1990).

5.1 L'acidification :

Les bactéries lactiques font partie de ce groupe. Généralement, le glucose provenant de cette hydrolyse sera fermenté pour produire des composés acides, du CO₂, dans certains cas ou de l'alcool. Cette production de composés acides va amener un abaissement du pH du produit se caractérisant par des odeurs et goûts surs. L'acidification du lait est un bon indice pour évaluer la qualité microbiologique et le respect de la chaîne de froid du lait cru.

C'est pour cette raison que l'industrie laitière évaluera le pH ou l'acidité titrable du lait à la réception comme indice de la qualité microbiologique de cette matière première (Hylan et al. 1984).

5.2 La protéolyse :

C'est la dégradation des protéines du lait avec formation de peptides, dont certains donnent des mauvais goûts aux produits laitiers.

5.3 La lipolyse :

C'est la libération d'acides gras à partir des triglycérides du lait, entraînant un goût de rance.

Les produits laitiers à haute teneur en matière grasse sont plus sensibles à la dégradation par les microorganismes lipolytiques. Dans l'industrie laitière, on tente d'éliminer ces microorganismes, qui sont souvent également responsables des activités protéolytiques. Ils sont fréquemment psychotropes et thermo duriques.

Dans des conditions non contrôlées, les principaux effets de cette dégradation sont l'apparition de fortes odeurs et de goût rance causés par des microorganismes contaminants du lait cru (Fox et al. 1987).

5.4 La production de gaz :

Certaines bactéries (hétéro fermentaires, bactéries telluriques) au cours de leur croissance produisent des gaz. Dans le cas de certains fromages on peut assister à l'apparition d'un défaut d'aspect, dû à la production de gaz, associé ou non à un défaut de goût.

Enfin, certains microorganismes ne semblent pas présenter les inconvénients cités plus haut. Leur présence en grand nombre dans le lait est toutefois l'indication d'une mauvaise hygiène générale au stade de la production du lait. Ces microorganismes peuvent être considérés comme « indicateurs » d'une hygiène défectueuse (Hauwuy et al. 2001).

5.5 Production d'alcool :

Les levures, microorganismes responsables de la production d'alcool, transforment le lactose du lait en alcool. La principale conséquence est l'apparition d'une odeur levure ou alcoolisée, souvent associée à la bière ou au pain (Alais, 1984).

La présence d'odeur ou de goût d'alcool dans le lait cru indice de mauvaises pratiques d'hygiène à la ferme, principalement en regard de la qualité de l'air. On peut soupçonner un taux de poussière trop élevé ou d'ouverture prolongé des portes et des fenêtres (Alais, 1984). A titre d'exemple de conditions contrôlées, on peut mentionner l'activité des levures dans la fabrication du kéfir.

Par contre, la présence d'une odeur levurée, de bière, de pain ou de renfermé dans un lait cru témoigne d'une contamination non contrôlée par des levures (Alais, 1984).

5.6 Production de polysaccharides ou de polypeptides:

Certains microorganismes utilisent les sucres ou les protéines du lait pour construire des molécules plus grosses et plus longues appelées respectivement polysaccharides ou polypeptides. On dira de ces microbes qu'ils sont filants, limoneux, texturants ou épaississants (Kuzdzal et Mocqout, 1960).

Selon les auteurs, les termes utilisés pour caractériser les bactéries responsables de cette production varient : poisseuses ou englues, collants, limoneuses, gluantes, épaississantes, texturants, ou visqueuses. Comme la plupart de ces microorganismes sont mésophiles, la présence de ce problème dans les produits laitiers est souvent un indice du bris de la chaîne de froid ou d'un non-respect des règles d'hygiène et de salubrité (Kuzdzal et Mocqout, 1960).

A titre d'exemple de conditions non contrôlées, on peut penser à l'apparition de longs filaments gluants ou de grumeaux dans les laits qui ont dépassé leur date de péremption ou dans des laits crus de mauvaise qualité microbiologique. Mentionnons aussi la possible formation d'une pellicule grasseuse à la surface des fromages (Kuzdzad et Mocqout, 1960).

6. Altération du lait:

Suivant le degré de dégradation des constituants du lait sous l'effet des microorganismes, on distingue quatre états bactériologiques du lait.

6.1 Phase de latence (bactériostatique):

Du fait des substances antibactériennes du lait et des bactériocines produits par les bactéries lactiques, les autres germes tendent à stagner ou à régresser. C'est une phase d'adaptation. Le lait peut alors se conserver pendant longtemps sous réfrigération. Toutefois, cette durée est réduite considérablement à une température élevée (Petrasxiene et Lapied, 1981).

6.2 Phase d'acidification:

Durant cette phase, l'acidité ionique diminue et le degré Dornic augmente. La fermentation du lactose par les espèces du groupe lactique principalement, aboutit à la production d'acide lactique.

Les streptocoques sont les premiers germes acidifiants intervenant par abaissement du **pH** et par augmentation de l'acidité, puis viennent les lactobacilles acidophiles qui, en proliférant, abaissent davantage le **pH** et entravent la croissance d'autres germes. Cette phase se poursuit jusqu' à la coagulation du lait par acidification (maximum pH 4,6) (Petrasxiene et Lapied, 1981).

6.3 Phase de neutralisation:

Les levures acidophiles jouent un rôle désacidifiant. Leur prolifération dans le lait, élève sensiblement le pH et entraîne la production d'alcool. C'est la phase de neutralisation. Elle correspond à une reprise d'activité des germes de putréfaction. Ce stade est à éviter si l'on veut conserver les qualités hygiéniques et marchandes du produit (Dieng, 2001).

6.4 Phase d'alcalinisation:

Elle est également dite de putréfaction et se traduit par une production d'hydrogène sulfuré, indice de dégradation systématique du lait, car il affecte aussi bien les caractères hygiéniques qu'organoleptiques (Petrasxiene et Lapied, 1981).

7. Hygiène de la traite:

Le lait est une denrée fragile dont le devenir industriel (lait en nature, beurre, fromage) dépend de sa qualité. La production d'un lait de qualité n'exige ni des installations coûteuses dans la ferme, ni des transformations ruineuses dans le système commercial et industriel; il faut surtout un suivi rigoureux et permanent des bonnes pratiques d'hygiène tout le long du circuit de sa production notamment à la traite (Crapelet et Thibier, 1973).

7.1 Traieur:

- Bon état de santé: pour éviter la pollution du lait et la contagion de certaines maladies (tuberculose) à la vache.
- Propreté: le vacher, avant de commencer à traire, doit se laver soigneusement les mains et les essuyer avec un linge propre.

- Tenue: le trayeur doit être habillé proprement et simplement. La meilleure tenue est le bleu de mécanicien; le trayeur doit mettre un tablier blanc toujours propre et une calotte blanche cachant ses cheveux (Crapelet et Thibier, 1973).

7.2 Animal:

- Propreté générale: elle sera obtenue par une litière correcte, si nécessaire un pansage journalier évitant la présence de souillures voire de plaques d'excréments.
 - Propreté de la mamelle: elle sera acquise par le passage sur le pis d'un linge propre trempé de solution légèrement antiseptique tiède; cette dernière devra être renouvelée aussi souvent que nécessaire pour rester propre et remplir son rôle.
 - Pour la traite en étable, la queue devra être attachée; pour éviter qu'elle ne souille le lait.
- Santé: on détectera précocement et systématiquement les maladies particulièrement dangereuses: tuberculose, mammites (Crapelet et Thibier, 1973).

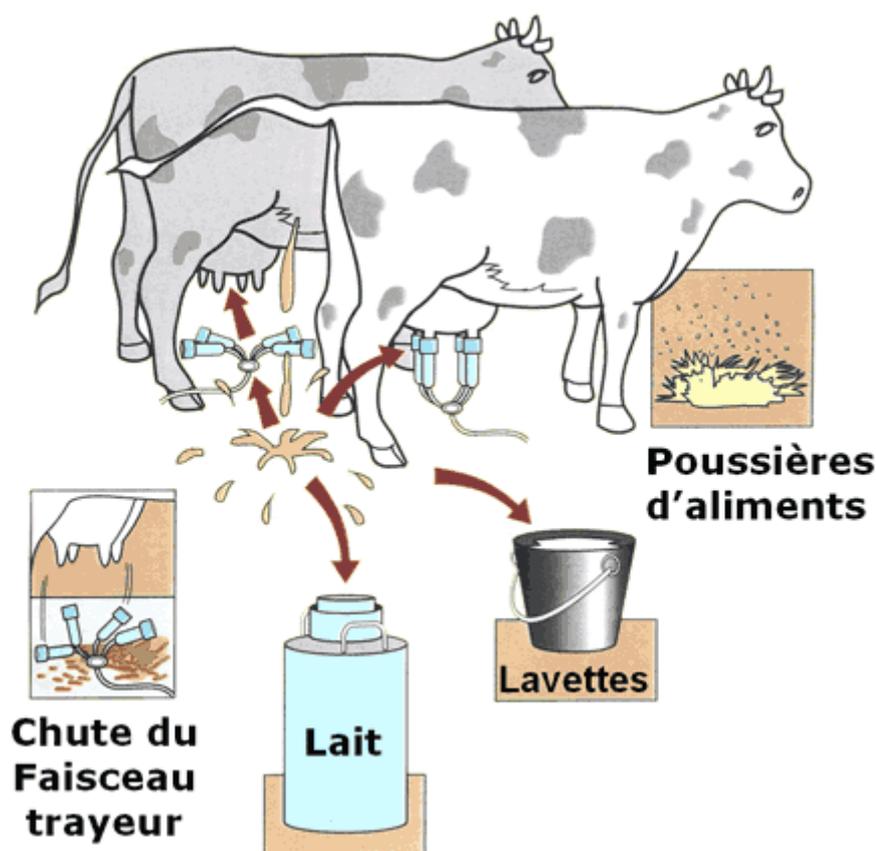


Figure 02 : Risque de contamination du lait pendant la traite.

Tableau 04: Tableau récapitulatif des règles pratiques d'hygiène de traite (Charron, 1986).

	Recommandé	Recommandé	A éviter
Lavage des mamelles	Lavette individuelle pour le lavage et l'essuyage.	Douchette et essuyage avec des serviettes individuelles de papier.	Une même lavette pour plusieurs vaches. Mamelles dégoulinantes à la pose des gobelets. Suppression du lavage
Elimination des premiers jets	Dans un récipient.	Au sol en salle de traite.	Sur les mains. Au sol en étable entravée.
Pose des gobelets Immédiatement après le lavage	Pas d'entrée d'air.	Attente prolongée après le lavage.	Entrée d'air importante.
Ordre de traite	Traite en dernier des vaches infectées (cas clinique, CMT ou taux cellulaires élevés).	Un ou deux faisceaux supplémentaires en salle de traite pour les vaches infectées.	Absence totale de précaution.
Fin de traite	Egouttage bref sans entrée d'air. Dépose des gobelets par gravité après coupure du vide.	Suppression complétée de l'égouttage. Utilisation de systèmes de décrochage automatique fonctionnant bien.	Egouttage long, avec entrée d'air. Dépose par arrachage avec entrée d'air Longue sur traite.
Désinfection des trayons	Systématiquement après chaque traite après trempage.	systèmes de pulvérisation.	Utilisation de certains Pas de désinfection ou désinfection mal faite et intermittente.
Autres	Traite en douceur Pas de modifications brutales de la routine Coups, bruits, chocs élec....		Modifications brutales de la routine.

Chapitre 02 :
Les mammites.

Définition :

Une mammite est l'inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle. C'est la réaction de défense contre une agression locale de la mamelle, la plupart du temps d'origine infectieuse (ARGENTE *et al* 2005, FABRE *et al* 1997).

1 . Etiologie :

La grande majorité des mammites sont d'origine infectieuse. Cependant on note l'existence de mammites d'origine traumatique, physique ou chimique.

L'infection de la mamelle par voie exogène est de loin la plus fréquente, bien que des infections par voie endogène soient décrites, notamment par des mycoplasmes. Il faut noter aussi l'excrétion possible de micro-organismes dans le lait sans qu'il n'y ait de signes cliniques de mammite associés, par exemple lors de tuberculose, para-tuberculose, salmonellose, listériose et brucellose.

La plupart des infections sont d'origine bactérienne. Les mammites mycosiques sont rares.

Généralement une seule espèce bactérienne est en cause, plus rarement l'association de deux espèces est possible. On considère d'ailleurs que la présence de plus de deux germes dans un lait de mammite signe une contamination du prélèvement.

Traditionnellement on classe les espèces bactériennes responsables de mammites en deux groupes.

Les espèces pathogènes majeures sont potentiellement responsables de mammites cliniques et regroupent les *streptocoques* (*Streptococcus uberis*, *Str. dysgalactiaesubsp.dysgalactiae1*, *Str. agalactiae*), les entérocoques (*Enterococcusfaecalis...*), les staphylocoques à coagulase positive (CPS) (*Staphylococcus aureus subsp. aureus2*), ainsi que les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiellapneumoniaesubsp. pneumoniae3*, *Enterobacteraerogenes...*).

Ces trois familles de germes sont responsables de la majorité des mammites cliniques (ARGENTE *et al* 2005, FABRE *et al* 1997).

2. Pathogénie :

2.1 Pénétration des germes dans la mamelle

Hormis le cas des mammites d'origine hématogène (mammite brucellique ou tuberculeuse), les germes pathogènes pénètrent dans la glande par le canal du trayon.

Le canal du trayon constitue la première barrière contre la pénétration des germes.

Le sphincter à sa base maintient le canal fermé entre les traites. Ensuite la muqueuse du canal est tapissée de cellules kératinisées possédant des propriétés bactériostatiques. Ces cellules desquament régulièrement, ce qui contribue à l'élimination des germes dans le lait en début de traite. Ainsi pour que les germes pénètrent, il faut d'abord que le sphincter soit ouvert.

L'ouverture du sphincter étant maximale à la fin de la traite, c'est lors de la traite et dans la demi-heure suivant la traite qu'a lieu la majorité des infections. De même le canal du trayon voit son diamètre augmenter au vélage et au tarissement, d'où une sensibilité accrue des vaches aux infections pendant ces périodes (BERTHELOT X., LEBRET P., PETIT C. (1987)).

Le franchissement du canal peut avoir lieu selon trois grandes modalités :

- Soit par le phénomène d'impact lors de la traite mécanique : une entrée d'air intempestive au niveau d'un manchon trayeur provoque une baisse du niveau de vide dans la griffe, et le reflux de lait de la griffe vers les autres manchons trayeurs où le niveau de vide est plus élevé. Ce lait va alors déposer des germes au niveau des trayons sains.
- Soit par la multiplication de germes présents sur le trayon entre les traites : ces germes profitent de la fermeture différée du sphincter pour pénétrer dans le canal. Toute lésion du trayon (verrue, blessure, gerçure) favorise la multiplication des germes et par conséquent la fréquence des infections.
- Soit par l'introduction directe dans le sinus lactifère de germes lors de traitements intra mammaires mal conduits ou de tout sondage du canal du trayon (d'après BARONE 1978).

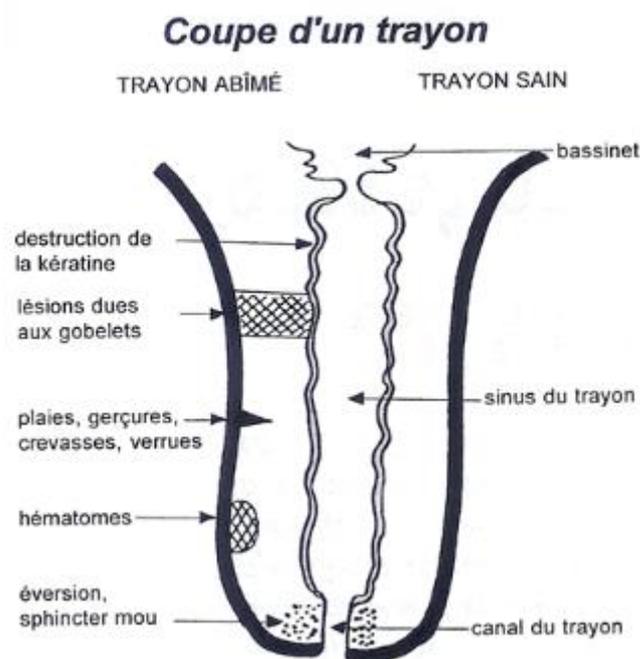


Figure 03 : Coupe longitudinale de l'extrémité du trayon chez la vache (d'après BARONE 1978)

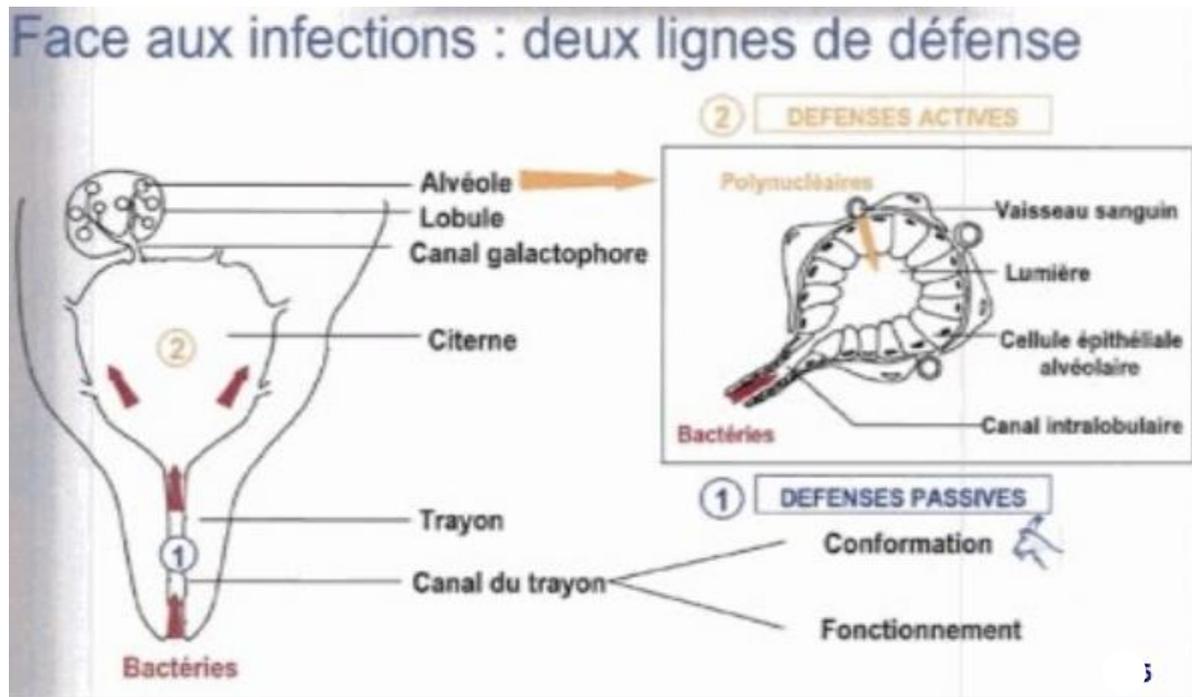


Figure 04: les principes de la défense du trayon.

3. Classification clinique des mammites :

3.1 Mammite clinique :

La définition d'une mammite clinique est la présence des symptômes fonctionnels, c'est-à-dire une modification de la sécrétion de la glande. La quantité et l'aspect du lait changent, reflétant une perturbation des fonctions de sécrétion et filtration (**BILLON P., MENARD J-L., BERNY F., VAUDIN V. (2001)**).

En plus de ces symptômes fonctionnels, on peut observer des symptômes locaux classiques de l'inflammation : rougeur, tuméfaction, chaleur et douleur de la mamelle ou du quartier atteint. On parle alors de mammite aiguë. Lors de mammite chronique, le quartier s'atrophie et se sclérose.

Enfin parfois on observe des symptômes généraux liés à une intoxication. Ils se traduisent par une altération de l'état général (abattement, anorexie, hyperthermie, rumination, déshydratation, troubles locomoteurs...). On parle alors de mammite suraiguë.

Nous allons maintenant évoquer les différents types de mammites cliniques rencontrés (**BILLON P., MENARD J-L., BERNY F., VAUDIN V. (2001)**).

3.2 Mammite sub-clinique :

Elle est par définition asymptomatique : la sécrétion paraît macroscopiquement normale même en début de traite, les signes locaux et généraux sont absents. Seul l'examen du lait au laboratoire permet de mettre en évidence des modifications chimiques (baisse du taux de caséines et de lactose, augmentation du taux de chlorures), bactériologiques (présence de germes) et surtout cellulaire du lait, en l'occurrence augmentation des cellules somatiques du lait (surtout les polynucléaires neutrophiles). Les germes en causes sont essentiellement à Gram positif (*staphylocoques et streptocoques*).

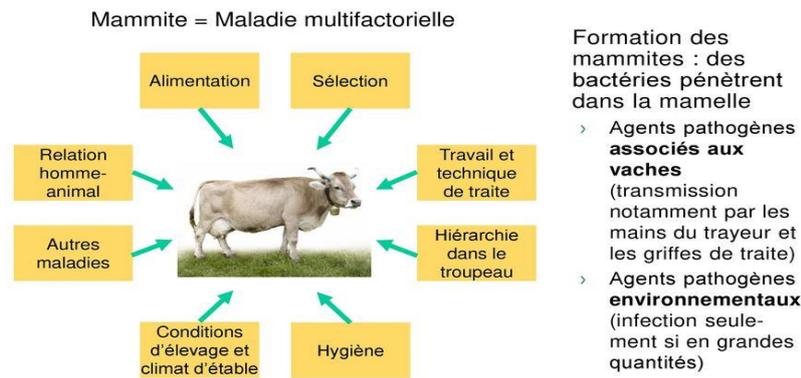
Les mammites sub-cliniques, beaucoup plus fréquentes que les mammites cliniques, sont insidieuses et responsables de pertes économiques importantes par une baisse de la production laitière et une augmentation des comptages cellulaires du troupeau (BILLON P., MENARD J-L., BERNY F., VAUDIN V. (2001)).

Tableau 05 : Germes responsables de mammites et leur réservoir primaire (modifié d’après QUINN *et al* 1994)

	genre	espèces	Réservoirs
Germes pathogènes majeurs	<i>Streptococcus</i>	<i>agalactiae</i> <i>dysgalactiae</i> <i>bovis</i> <i>uberis</i>	mamelle cavité buccale, génitale Tube digestif, vagin peau
	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i> <i>faecium</i>	Fèces, peau
	Staphylocoques à coagulase +	<i>S. aureus</i> <i>S. intermedius</i> <i>S. hyicus</i>	Peau, trayon, muqueuses, homme
	Entérobactéries	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Fèces litière
	Anaérobies	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	Bovins, peau, muqueuses
	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sol, fèces, eau
	<i>Mycoplasma</i>	<i>M. bovis</i> <i>M. bovis genitalium</i>	Bovins
	Autres	<i>Mycobacterium bovis</i> <i>Nocardia asteroides</i> <i>Bacillus cereus</i>	Bovins Environnement
	Germes pathogènes mineurs	Staphylocoques à coagulase -	<i>S. capitis</i> <i>S. chromogenes</i> <i>S. cohnii</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. haemolyticus</i> <i>S. hominis</i> <i>S. saprophyticus</i> <i>S. sciuri</i> <i>S. warneri</i> <i>S. xylosus</i>
Corynébactéries		<i>Corynebacterium bovis</i>	Bovins

Bovins – Santé

Influences sur la santé mammaire des vaches laitières



© 2016 FIBL, Bio Suisse • Collection de transparents • 8) Production animale • Transparent 8.61

Figure 05:l'agent pathogène en cas des mammites.

4. Diagnostic :

4.1 Diagnostic individuel :

4.1.1 Diagnostic clinique :

La détection précoce des mammites passe par la détection des symptômes fonctionnels, avant l'apparition de symptômes locaux. On cherche donc à mettre en évidence la présence de grumeaux dans le lait. Le moyen le plus efficace est l'épreuve du bol de traite :

Lors de la préparation de la mamelle à la traite, les premiers jets de lait de chaque quartier sont recueillis dans un bol à fond noir et rugueux, avant la mise en place des gobelets trayeurs.

Malheureusement de nos jours encore l'épreuve du bol de traite n'est pas réalisée systématiquement sur tous les quartiers dans de nombreux élevages (**MIALOT J-P. (1983)**).

4.1.2 Diagnostic expérimental :

Le diagnostic des mammites sub-cliniques nécessite la mise en évidence d'une augmentation du taux cellulaire du lait (**MIALOT J-P. (1983)**).

4.1.2.1 Technique directe de numération cellulaire

Ces techniques automatisées sont appliquées mensuellement sur le lait de mélange des quatre quartiers de chaque vache, dans les élevages adhérents au contrôle laitier.

L'appareil de mesure le plus répandu dans les laboratoires est le Fossomatic (méthode fluoro-optoélectronique) et ses dérivés. Le principe consiste à compter les noyaux des cellules du lait rendus

fluorescents par coloration au bromure d'éthidium (agent intercalant de l'ADN). Le lait est disposé sur un disque. La fluorescence est émise par les cellules après excitation à une longueur d'onde spécifique du bromure d'éthidium(400-530 nm) (LERAY 1999).

Le nombre de cellules est sujet à des variations physiologiques selon le stade de lactation, la race et le rang de lactation (LE PAGE 1999). On prend donc en compte plusieurs comptages par vache pour une lactation (SERIEYS 1985):

- Si tous les comptages cellulaires individuels (CCI) sont inférieurs à **300 000** cellules par millilitre, la vache est considérée comme saine.
- Si deux CCI sont supérieurs à **800 000** cellules par millilitre, la vache est considérée comme infectée durablement.
- dans tous les autres cas, elle est considérée comme douteuse.

Notons que l'on peut aussi mesurer le taux cellulaire du lait de chaque quartier individuellement, ce qui sera réalisé dans notre étude, avec pour but d'estimer la guérison du quartier, ou de détecter les quartiers probablement infectés.

4.1.2.2 Technique indirecte de numération cellulaire :

a) Le « Californian mastitis test » (CMT) ou test au Teepol :

C'est une méthode semi-quantitative qui peut être appliquée par l'éleveur directement en salle de traite.

Pendant la préparation de la mamelle à la traite, après lavage, essuyage du trayon et élimination des premiers jets, **2ml** de lait de chaque quartier sont tirés dans une coupelle correspondant à chaque quartier, puis mélangés avec **2ml** de Teepol (alkyl-aryl-sulfonate de Na)

à **10%**, un détergent qui va provoquer la lyse des cellules du lait. On agite doucement pour mélanger pendant quelques secondes avant d'observer la consistance du mélange.

En lisant les membranes cellulaires, le détergent libère l'ADN des cellules qui forme un gel dont la viscosité est proportionnelle au nombre de cellules dans le lait.

b) Mesure de la conductivité électrique du lait :

Lors de mammite, la concentration du lait en éléments filtrés, notamment en ions **Cl⁻** et **Na⁺**, augmente. Il en résulte une brusque augmentation de la conductivité électrique du lait.

Mais en comparant cette méthode de détection des mammites sur le lait des quatre quartiers avec les autres pratiques de détection des mammites, on se rend compte que celle-ci manque à la fois de sensibilité et de spécificité (BILLON et al 2001). Par contre la valeur prédictive positive augmente si l'on passe à l'échelle du quartier.

5. Traitement :

5.1 Antibiotiques:

5.1.1 Plans de traitement d'antibiothérapie :

Le plan de traitement proposé par le vétérinaire praticien se base sur le modèle épidémiologique du troupeau établi à partir des documents de l'élevage et d'un sondage bactériologique. Il permet de choisir l'antibiotique à privilégier en première intention, excepté pour les mammites cliniques accompagnées de signes généraux ou la gravité de la situation autorise l'utilisation d'antibiothérapie large spectre en première intention quel que soit le modèle épidémiologique du troupeau.

Le traitement des mammites cliniques accompagnées de signes généraux débute par la gestion du choc via la fluidothérapie, la correction des troubles électrolytiques éventuels et l'administration d'un anti-inflammatoire (AINS de préférence). Le traitement antibiotique se fait par voie diathésique (= intramammaire) avec un spectre large **Gram** – et **Gram** +, et générale pour lutter contre les infections secondaires à la bactériémie.

Les mammites cliniques avec signes généraux nécessitent un traitement de première intention le plus efficace possible afin d'éviter l'évolution vers la septicémie et la mort de l'animal.

Pour l'antibiotique par voie diathésique, Bosquet et al. 2013 recommandent une association large spectre Gram + et Gram – de type β -lactamine – aminoside, amoxicilline – acide clavulanique ou batracien – néomycine. Le traitement par voie générale cible les Gram – afin de lutter contre les conséquences de la bactériémie avec des fluoroquinolones, du sulfamide – triméthoprime, des aminosides ou de la colistine (**Bosquet et al., 2013**).

Suojala et al.,(2010) ne recommandent pas l'utilisation de l'enrofloxacin sur les mammites cliniques aiguës à *E. coli*. Dans leur étude, le recours à de l'enrofloxacin en plus d'un traitement à base de ketoprofène (AINS), ne modifiait pas significativement le taux de guérison et de survie.

Lago et al.(**2011a et 2011b**) recommandent l'utilisation d'antibiotiques ciblés en cas de mammites cliniques de grade 1 à 2 dues à des bactéries **Gram** + et un traitement symptomatique seul pour les mammites dues à des bactéries **Gram** -.

Dans leur étude sur **422** vaches nord-américaines, ils montraient que le choix d'une antibiothérapie ciblée n'induisait aucune différence en termes de réussite du traitement à court et long terme : la guérison clinique et bactériologique, l'apparition d'une nouvelle infection intra-mammaire, le risque d'échec du traitement dans les **21 jours**, la production laitière, le taux de survie, etc. L'utilisation de l'antibiothérapie ciblée a permis à **Lago et al. (2011 a et b)** de diminuer de moitié leur consommation d'antibiotiques intra-mammaires.

Les mammites cliniques non accompagnées de signes généraux sont souvent des infections récentes et de localisation parenchymateuse superficielle.

Recommandent l'utilisation de la voie diathelique en première intention. La voie générale est justifiée seulement lors de congestion importante du quartier, qui restreint la bonne diffusion de l'antibiotique intra mammaire ou lors de mammites sub-clinique précédemment détectée qui devient clinique.

Le choix des antibiotiques se fait sur la base du modèle épidémiologique et des bactéries suspectées. Lorsque les bactéries **Gram** – sont majoritairement suspectées, privilégient les associations d'antibiotiques pour obtenir un large spectre d'action telle l'association batracien - néomycines. Le choix d'antibiotiques est le même lorsque le modèle épidémiologique est mixte ou indéterminé.

En cas de suspicion principale de bactéries **Gram +**, les antibiotiques sont ciblés avec un spectre d'action principalement **Gram +**.

5.2 Comment traiter?

Pour être efficace, ce traitement doit être précoce et d'emblée bien mené: voie d'administration correcte, produit actif, posologie et durée d'application suffisantes.

- **Agir vite:**

Plus rapidement la mammite est traitée, plus facile et plus complète est sa guérison. La détection des mammites à leur début est aisément réalisée par l'inspection des premiers jets avant de brancher la griffe de la machine à traire.

- **Par voie intra mammaire:**

C'est encore la voie de choix pour le traitement de la très grande majorité des mammites cliniques. On administre des pommades d'antibiotiques dans le quartier malade.

- **Agir avec le bon antibiotique:**

Pour cela on réalisera l'antibiogramme pour choisir les bons antibiotiques. En règle générale, il faut éviter les spécialités contenant plus de deux antibiotiques. Dans tous les cas ne faut jamais sous-doser, et employer la dose indiquée.

- **Agir longtemps:** Il faut un traitement soutenu, une administration matin et soir, et suffisamment long, trois jours minimum de traitement.

- **Agir avec une hygiène correcte:**

Toute administration dans un quartier doit être précédée par un nettoyage et une désinfection de bout du trayon à l'alcool à 70°.

L'absence de ces mesures, comme l'usage d'une sonde non stérilisée, peut entraîner l'injection de germes très hauts dans la glande et donc faire plus de mal que de bien pour elle (**Rainard ,1979**).

- **Respecter les délais d'attente :**

Ils sont indiqués sur l'ordonnance vétérinaire et rappelés sur les boîtes de médicaments, pour livrer le lait à la laiterie.

5.3 Remarque:

Un nombre élevé de traitements ne pourra jamais remplacer un plan de prévention bien adapté : un bon fonctionnement de la machine à traire, hygiène et technique de traite correctes, bonnes conditions de logement, trempage des trayons, éviterons à l'élevage beaucoup de problèmes (**Rainard, 1979**).

Chapitre 03 :

L'antibiorésistance chez les staphylococcus aureus.

1. Définition :

Les antibiotiques sont des substances naturelles produites par certains micro-organismes ; elles sont actives sur d'autres bactéries. Aujourd'hui, les antibiotiques sont produits par synthèse chimique.

L'antibiorésistance est la capacité d'une bactérie à résister à l'action d'un antibiotique.

Les cibles des antibiotiques sont nombreuses ; citons les principales :

- La paroi de la bactérie: la pénicilline, par exemple, agit sur celle-ci;
- le noyau (et son ADN) ;
- Une enzyme produite par la bactérie et qui est nécessaire à son développement.

Les antibiotiques agissent sur la bactérie suivant deux modes : ils peuvent la tuer (effet bactéricide) ou bloquer plus ou moins longtemps sa multiplication (effet bactériostatique), ce qui aboutit au même résultat car, par la suite, le système immunitaire prend le relais en phagocytant les bactéries.

L'antibiotique sert alors uniquement à empêcher le système immunitaire d'être submergé (cf. Défenses de la mamelle) (**Bosquet *et al.* 2013**) .

2. La résistance aux antibiotiques :

Elle est soit :

2.1 naturelle :

- lorsque toutes les bactéries d'une même espèce ne possèdent pas dans leur structure la cible que l'antibiotique devra atteindre pour la détruire, l'espèce bactérienne sera naturellement résistante à cet antibiotique. Par exemple, certains germes proches des bactéries ne possèdent pas de paroi. Ils sont naturellement résistants à la pénicilline dont la cible est la paroi bactérienne. C'est ainsi le cas des mycoplasmes,

- lorsque l'antibiotique ne peut pas pénétrer dans la bactérie et que la cible à atteindre est interne, par exemple l'ADN du noyau,

- lorsque la bactérie possède une enzyme capable de détruire l'antibiotique. 50 % des souches de *Staphylococcus aureus* possèdent une enzyme appelée pénicillinase capable de rendre la pénicilline inactive (**Puyt *et al.* 2013**).

2.2 Acquis:

Lorsqu'elle est codée par un gène de résistance appartenant au génome du germe (ADN du noyau). Quand les bactéries se multiplient, elles se transmettent ces gènes de résistance. On parle alors de transmission verticale. Le passage des gènes de résistance d'une bactérie à l'autre ne se produit pas uniquement lors de la multiplication des bactéries. Il peut avoir lieu d'une bactérie à une autre de la même espèce, voire même lorsque les bactéries appartiennent à des espèces très différentes, qu'elles soient

pathogènes ou non. Les bactéries non pathogènes de la flore intestinale peuvent acquérir des gènes de résistance. La transmission est dite horizontale (**Puyt et al. 2013**).

Exemple de transmission horizontale : un colibacille peut transmettre son gène de résistance à un autre colibacille ou à un staphylocoque. Ce phénomène se réalise grâce à des éléments mobiles (plasmides, transposons, intégrons).

Ces échanges seront d'autant plus fréquents qu'un grand nombre de bactéries différentes sont en contact. Des milieux comme le milieu intestinal, colonisés par de nombreuses espèces de germes, favorisent ces échanges de gènes de résistance intra et inter-espèces.

Le lait, normalement stérile dans la mamelle, n'est colonisé, lorsqu'il est infecté, que par une, voire deux souches pathogènes : ce n'est par conséquent pas un milieu très favorable à l'acquisition de gènes de résistance.

La sélection de souches résistantes aux antibiotiques chez les bactéries n'est pas un phénomène nouveau. Il est apparu très rapidement après le début de l'utilisation du premier antibiotique (la pénicilline).

Le mécanisme de résistance (gène de résistance) préexistait au sein de la population bactérienne. C'est l'utilisation importante de l'antibiotique qui a sélectionné les bactéries

Possédant ces mécanismes. L'utilisation irraisonnée et importante d'antibiotiques, en détruisant les souches non résistantes, favorise la sélection et le développement des souches résistantes. Ce phénomène est encore aggravé lorsque l'on intervient tardivement, que l'on utilise des doses d'antibiotiques insuffisantes ou que l'on arrête trop tôt le traitement. De plus, certaines souches ont acquis une résistance à de nombreux antibiotiques, ce sont les souches multi résistantes (**Puyt et al., 2013**).

3. Résistance aux antibiotiques des *S. aureus*

La résistance bactérienne aux antibiotiques ou antibiorésistance est un phénomène de portée universelle, il n'a cessé d'augmenter de manière progressive au cours de ces dernières années. Ce problème de santé publique touche à la fois la santé animale et la santé humaine (Faye, 2005). La diffusion d'un grand nombre de bactéries pathogènes résistantes à plusieurs antimicrobiens a été reconnue par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE), l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme un problème sérieux en raison de la fréquence avec laquelle de nouveaux phénotypes de résistance apparaissent parmi les agents pathogènes et même chez les microorganismes commensaux (OIE, 2008).

L'histoire des résistances bactériennes commence avec l'utilisation des sulfamides dans les années 30. Les streptocoques résistants émergèrent et compliquèrent le traitement. Plus tard, dans la première année d'utilisation de la pénicilline, la résistance de certaines souches bactériennes apparaît, détruisant

la molécule par une pénicillinase. D'abord découverte chez *Escherichia coli* (Sanders, 1999), une enzyme ayant les mêmes propriétés était retrouvée peu après dans d'autres espèces, notamment chez les staphylocoques coagulase positifs. L'augmentation des staphylocoques résistants à la pénicilline s'accrut dramatiquement en quatre ans : 14 % en 1944 et 59 % en 1948 (Levy, 1984 ; Leclercq, 1999).

4. Méthodes pour limiter les antibiorésistances :

Afin de lutter contre l'antibiorésistance, il faut limiter le contact entre des antibiotiques inadaptés et les bactéries. (Bosquet *et al.* 2013) recommande de limiter l'usage :

- des antibiotiques dans le traitement des mammites : cela concerne les traitements non justifiés ou les chances de guérison sont faibles. La prévention des mammites par des modifications du logement, de l'hygiène de traite ou de la machine à traire diminue le nombre de traitements antibiotiques utilisés,
- des traitements par voie générale : ils agissent sur la mamelle mais également sur les flores commensales de l'organisme dont la flore digestive et peuvent induire des résistances au niveau de cette flore. De même, afin de limiter le développement de résistance de la flore digestive, le lait contenant des résidus d'antibiotiques ne doit pas servir à la nutrition des veaux. Les traitements par voie générale doivent être réservés aux situations l'exigeant comme lors de risque de septicémie ou de rechute de mammite clinique,
- systématique des traitements à large spectre,
- des antibiotiques de dernières générations, appelés aussi antibiotiques d'importance critique ou « antibiotiques critiques » (ce sont principalement les céphalosporines de 3^{ème} et 4^{ème} générations ainsi que les fluoroquinolones), afin de préserver leur efficacité.

Partie

Expérimentale

Matériel et méthodes

1. Objectif :

Notre travail consiste à l'étude de l'antibiorésistance des staphylococcus aureus isolés à partir de lait des vaches mammiteux.

Le recours à cette étape nous permet de définir le choix et la stratégie thérapeutique.

2. Population de l'étude :

Une vache laitière avec mammite clinique dans la région de Tiaret.

Les analyses microbiologie du lait cru et le test de l'antibiogramme, ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie, institut des sciences vétérinaires de l'université IBN KHALDOUNE-TIARET.

2.1 Prélèvement du lait :

Une procédure rigoureusement aseptique doit être suivie pour le prélèvement d'échantillons de lait afin d'éviter la contamination de la mamelle par les nombreux microorganismes Présents aussi bien sur la peau des flancs, du pis et des trayons de la vache, que sur les mains du préleveur et dans l'étable. Les étapes suivantes visent à réduire le risque de contamination lors du prélèvement :

- Après avoir enfilé des gants et lavé les trayons tirez quelques jets de lait dans une tasse-filtre pour réduire le nombre de bactéries dans le canal du trayon.
- Désinfectez tout le trayon à l'aide d'un tampon imbibé d'alcool.
- Sans toucher au trayon avec le tube prélevez du lait dans le tube incliné pour éviter la contamination.
- Après avoir rempli le tube $\frac{3}{4}$ remettez le bouchon en place.
- Faire tremper le trayon dans un désinfectant.
- Inscrivez sur le tube : la date le n° de la vache, le quartier échantillonné.
- Une fois prélevés, les échantillons sont placés dans une glacière à une température voisine à +4 °C pendant 24 à 48h, puis acheminés au laboratoire.

2.2 Préparation des échantillons :

Le lait contenu dans un récipient de prélèvement est simplement homogénéisé par agitation avant l'analyse (ISO 8261 ,2001 ; NA 1050,1997).

2.3 Milieux de culture :

2.3.1 Gélose Baird Parker :

La gélose Baird Parker est le milieu sélectif des S. aureus. Milieu utilisé pour la

Numération de *Staphylococcus aureus* en microbiologie alimentaire. Isolement des *Staphylococcus aureus*. Il peut être aussi utilisé pour l'identification de *S. aureus* en complément d'autres tests (Thermonucléase et Staphylocoagulase) .

2.3.1.1 Composition:

Composition pour la préparation d'un Litre de milieu.

- . Peptone :.....10,0 g
- . Extrait de viande de bœuf :.....4,0 g
- . Extrait de levure :.....2,0 g
- . Pyruvate de sodium :10,0 g
- . Glycocolle.....12,0 g
- . Chlorure de lithium :.....5,0 g
- . Agar-agar :.....20,0 g

A. ajouter en conditions stériles juste avant l'ensemencement (sinon détruit par l'autoclavage) :

- Émulsion de jaune d'œuf (stérile) :50,0 ml
- Tellurite de potassium (stérile):.....0,1 g

PH du milieu = 7,2

2.3.2 Gélose Chapman

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif, surtout utilisé en microbiologie médicale, permettant la croissance des germes halophiles. Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, les *Bacillus*, et de rares bactéries à Gram négatif.

2.3.2.1 Composition :

Composition pour la préparation d'un litre de milieu.

- Peptone :.....10,0 g
- Extrait de viande de bœuf :.....1,0 g
- Chlorure de sodium :.....75,0 g
- Mannitol :.....10,0 g
- Rouge de phénol :.....0,025 g
- Agar-Agar :.....15,0 g
- Eau distillée :.....qsp 1 Litre

pH = 7,4

2.4 Réactifs Utilisés :

- Tellurite de Potassium.

- Emulsion de Jaune d'œuf.
- Alun de Fer.
- Sulfite de Sodium.
- Plasma de lapin lyophilisé.
- Eau Oxygénée.
- Eau Physiologique Stérile a 0.9%.
- Eau Distillée.

2.4.1 Réactifs de la coloration de Gram :

- Violet de gentiane.
- Lugol.
- Alcool.
- Fuschine.

3. Examens bactériologies :

- Dans le cas de produits liquides (lait), agiter soigneusement l'échantillon pour essai afin d'assurer une répartition aussi uniforme que possible des micro-organismes.

- Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques, 1 ml de l'échantillon à analyser est prélevé, puis dilué d'une manière isotopique dans des tubes contenant 9 ml de diluant; l'eau physiologique.

- Dénombrer la flore mésophile aérobie totale, c'est tenter de compter tous les micro-organismes présents, afin d'apprécier la pollution microbienne du produit (Joffin, 1999). C'est un bon indicateur de la qualité générale du lait (Guiraud, 1998).

- Inoculation : La boîte de Pétri est inoculée avec un ml de chaque dilution auquel est ajouté de la gélose PCA (Institut Pasteur, Algérie) fondu au préalable au bain d'eau à l'ébullition et maintenu à 45-46°C au maximum trois heures. Pour homogénéiser l'inoculum à la gélose, faire des mouvements circulaires de va-et-vient. Laisser solidifier.

- Incubation :

Placer les boîtes de pétri retournées, dans l'étuve à $30 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 72 heures.

- Résultats:

Compter à l'œil nu toutes les colonies qui se sont développées quelle que soit leur taille.

3.1 Dénombrement des Staphylococcus aureus :

Principe : De nombreux milieux sont utilisables pour l'isolement et la numération directe :

. Le milieu Chapman mannite contient une forte teneur en NaCl (7,5%) et inhibe la croissance de nombreuses bactéries autres que les Micrococcus et Staphylococcus (Guiraud, 1998).

. Le milieu Baird Parker solide; qui est le milieu de choix en microbiologie alimentaire.

La Tellurate de potassium et une émulsion de jaune d'œuf sont apportés au moment du coulage. Le milieu qui a été utilisé est celui de Baird Parker.

Macroscopique : Les *Staphylococcus aureus* donnent des colonies noires (réduction de tellurite en tellure), avec un halo clair dû à la protéolyse des protéines de jaune d'œuf, et, éventuellement un liseré blanc opaque (précipitation des acides gras produits par la lécithinases qui hydrolyse la lécithine du jaune d'œuf). Leur taille est de 0,5 à 2 mm avec un aspect brillant, Les colonies de *Staphylococcus* non pathogènes sont souvent inhibées ou se développent de manière irrégulière (Guiraud, 1998).

Microscopique : (Coloration de Gram)

La coloration de Gram est effectuée à partir des colonies cultivées sur gélose Baird Parker, présentant l'aspect caractéristique du staphylocoque. Elle peut être aussi réalisée sur des colonies cultivées sur le milieu Chapman, pour confirmer la présence de cocci en diplocoques et en grappes de raisin.

4. Antibiogramme :

4.1 :détermination

L'antibiogramme est effectué selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique sur gélose Müller Hinton selon les recommandations du réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (6ème édition 2011).

4.2 Antibiotiques testés :

La sensibilité des différentes souches a été déterminée essentiellement vis-à-vis de sept antibiotiques : Ampicilline (10µg), Amoxicilline + Acide clavulanique (20/10 µg), la céfoxitine (30 µg), la kanamycine (30 µg), la gentamicine (10 µg). L'érythromycine (15 µg), la tétracycline (30µg).

4.3 Antibiogramme Par Diffusion Des Disques :

a. Milieu pour antibiogramme : (gélose Müller Hinton)

Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm. Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

b. Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

c. Ensemencement :

Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum. L'essorer en le pressant fermement (et

en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

d. Application des disques d'antibiotiques :

Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm, Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.

e. Conditions d'incubation :

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie.

f. Lecture :

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

Résultats et discussion

1. Résultats :

1.1 Prélèvement:

Échantillons de lait cru ont été analysés au niveau du laboratoire de reproduction animale de l'institut des sciences vétérinaires de l'université IBN KHALDOUNE-TIARET-.

La qualité microbiologique du lait est importante pour sa conservation voire sa transformation (Guinot et al. 1995).

Les germes dénombrés sont considérés comme des indicateurs de la qualité globale du lait et des pratiques d'hygiène. Les résultats obtenus ont permis d'évaluer les contaminations cumulées de la production à la ferme jusqu' à la commercialisation après pasteurisation et conditionnement.

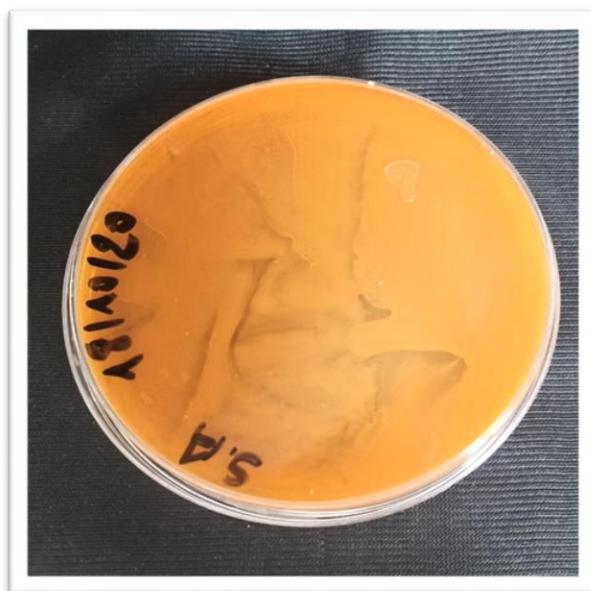


Figure06 : prélèvement du *Staphylococcus aureus* sur le milieu de Chapman (laboratoire ISVT)

1.2 Identification de *S. aureus* :

une seule souche de *Staphylococcus* isolés sur le milieu de Chapman répondent aux caractéristiques macroscopiques et microscopiques du genre *Staphylococcus*. Elles sont catalase positives.

Les colonies présentant l'aspect caractéristique du staphylocoque ont fait l'objet d'une purification sur le milieu de Chapman.

La purification des bactéries isolées nous a permis de choisir la souche qui s'est avérée des cocci à Gram positif, groupées en amas sous forme de grappes de raisin.

Leur aspect macroscopique sur le milieu Chapman a montré qu'elles sont:

crémeuses, bombées, de 1 à 2 mm de diamètre, lisses, brillantes et pigmentées en jaunes.

Cette pigmentation est due à la dégradation du mannitol en acide lactique (abaissement du pH = acidification du milieu). Elles sont coagulase positives ce qui a permis de les assigner à l'espèce *Staphylococcus aureus*.

2. Antibiotogrammes TEST :

Parmi les micro-organismes les plus incriminés dans les infections

Staphylococcus aureus occupe une place privilégiée. Son pouvoir pathogène, son caractère ubiquiste et l'absence d'exigences nutritionnelles font de cette bactérie un exemple d'adaptation et de dissémination. Cette situation semble se compliquer par l'émergence et la progression du phénomène de résistance aux antibiotiques qui place les cliniciens dans une impasse, face à des germes réfractaires à tous types de traitement (Rebiahi, 2012).

La nourriture est un facteur important dans le transfert de cette résistance aux antibiotiques (Pesavento et al. 2007).

2.1 Souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline :

- Les résultats de notre étude indiquent que les huit isolats de SARM sont d'une origine animale : le lait cru, aucun SARM n'a été isolé du lait pasteurisé.
- Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) aggravent le pronostic et compliquent de manière sérieuse la prise en charge des staphylococcies. De ce fait, elles représentent un problème de santé publique majeur (Gould, 2005). Ces bactéries sont à l'origine d'infections nosocomiales sévères mais aussi de pathologies communautaires (Chambers, 2001).
- Une étude réalisée en 2014 à l'hôpital de Kolea (Tipaza, Algérie), (Boukhatem et al., 2015) a rapporté que le taux des SARM était de 38,46% taux plus élevé que celui trouvé dans les pays nordiques (Suède, Danemark) où le pourcentage de *S. aureus* résistant à la méticilline est resté très bas < 2 % (Elhamzaoui et al., 2009), a celui trouvé au Maroc au niveau du Centre Hospitalier ibn Sina de Rabat avec 10% (El-anzi, 2014) et à ceux rapportés pour la Côte Ivoire, et la Tunisie avec 25%, et 15,3% respectivement (Mastouri et al., 2010).
- Cependant, seuls quelques cas de SARM chez les animaux producteurs d'aliments et dans les aliments d'origine animale ont été signalés (Lee, 2003)
- La plupart des animaux peuvent être colonisés par *S. aureus*, mais c'est seulement en 1995, Kluytmans et al., décrit la première éclosion d'origine alimentaire de SARM qui causa la mort à cinq des vingt un patient (Normanno et al., 2007)
- Le taux de SARM trouvé dans notre étude est de 13,33%, taux un peu élevé par rapport au nombre de prélèvements, comparé au taux enregistré par Normanno et al (2007) qui a isolé 6 souches, soit (0,4%) de SARM à partir de 1634 échantillons de lait de vache et de fromage. Dans une enquête Japonaise, Kitai et al (2005) a isolé deux souches de SARM (0,5%) à partir de 444 échantillons de viande de poulet.
- Nos résultats concordent avec celles récemment réalisés au Brésil ou les SARM

étaient présents dans 32% des échantillons de hamburger cru et 8% des échantillons de sandwich prêt à consommer commercialisés dans les supermarchés et les établissements de restauration rapide. La fréquence du SARM était plus élevée dans les échantillons contenant de la viande de poulet (Contreras et al. 2015). Chaalal , 2013 a également isolé 01 souche SARM parmi 13 souches de S.aureus isolées de viande fraîche et 01 autre SARM parmi 14 souches de S. aureus isolées de lait cru .

- Ceci suggère que les aliments d'origine animale sont des réservoirs de SARM et peuvent transmettre l'agent pathogène à l'être humain (Crago et al., 2012). En matière de sécurité alimentaire, la présence de SARM dans les aliments et notamment dans le lait cru de bovins présente une menace avérée, surtout quand il est consommé cru ou utilisé dans la production fromagère, constituant ainsi une source de contamination pour les produits laitiers transformés.

2.2 Résistance des SARM aux autres antibiotiques:

- L'histogramme illustre le caractère résistant des souches de S.aureus résistantes à la méticilline (SARM), présentant une résistance croisée aux β - lactamines qui s'étend à d'autres familles d'antibiotiques. La totalité des SARM isolées dans ce travail se sont avérées résistantes à l'ampicilline, à l'association Amoxicilline/Acide clavulanique .

- Ces souches ont également échappé à l'action des aminosides traduisant un taux de résistance de 25% pour la kanamycine .Par contre la gentamicine a été pondéralement plus active exprimant un taux de sensibilité de 100 %.

- Le phénomène de l'antibio résistance n'a pas épargné la tétracycline et l'érythromycine avec des taux de 87,50% et 62,50% respectivement.

2.2 Pourcentage de résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* :

Tableau06 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus*.

Antibiotique	Pourcentage de résistance %	
	SARM	SASM
Tétracycline (TE)	83	38
Kanamycine (KA)	28	6
Amoxicilline/Acide clavulanique (AMC)	100	9
Gentamycine(GE)	0	0
Céfoxitine (FOX)	100	0
Erythromycine (E)	63	32
Ampicilline (AM)	100	88

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.

SASM : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline.

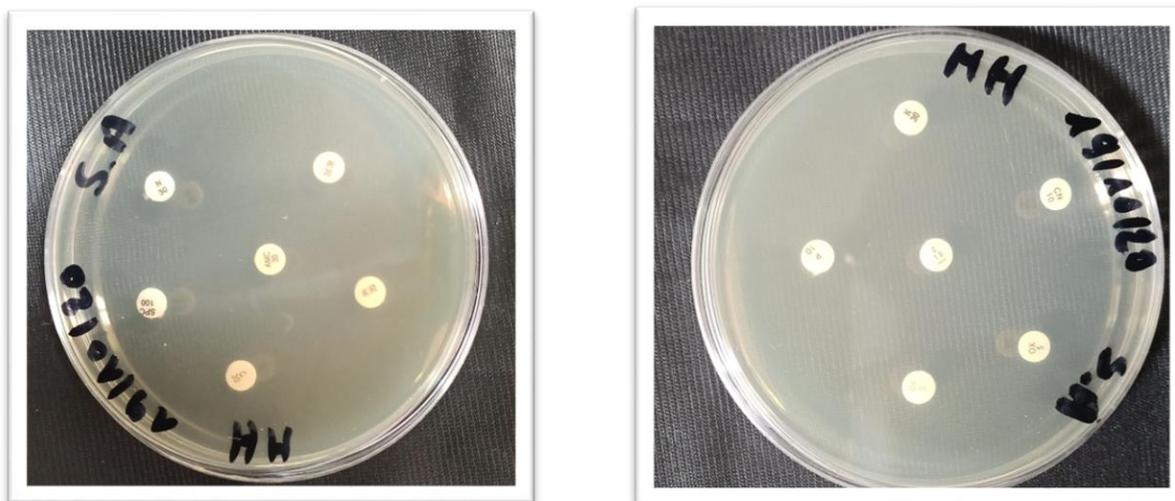


Figure 07 : une souche **SASM** présentant une multi résistance.

Résultat du test :

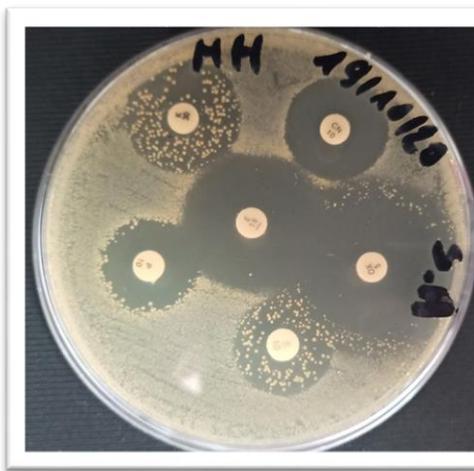


Figure 08: résultante de réaction d'antibiotique sue la souche de *Staphylococcus aureus*.

CN 10 : Gentamicine.

K 30 : kanamycéne.

E 15 : Erythromycine.

P 10 : Pénicilline.

S 10 : Streptomycine.

OX 5 : Oxacilline.



Figure09 : résultante de réaction d'antibiotique sue la souche de *Staphylococcus aureus*.

N 30 : Neomycin.

SPC 100 : Spectinomycin.

C30 : Chloramphenicol.

AMC 30 : Amoxicilline Acide clavulanique.

PI 20 : Pipenicidic acide.



Figure10 : résultante de réaction d'antibiotique sue la souche de *Staphylococcus aureus*.

2.3 Sensibilité et résistance du résultat :

Tableau 07 : Sensibilité et résistance du résultat de l'antibiotique sur la souche de *Staphylococcus aureus*.

Antibiotiques	Diamètre	Résultat
CN 10 : Gentamicine	21	S
K 30 : kanamycéne	25 ⇒ 00	I - R
E 15 : Erythromycine	29	S
P 10 : Pénicilline	18	R
S 10 : Streptomycine	20 ⇒ 00	I - R
OX 5 : Oxacilline	28	S
N 30 : Neomycine	14	I
SPC 100 : Spectinomycin	20	S
C30 : Chloramphenicol	25	S
AMC 30 : Amoxicilline Acide clavulanique	18	R
PI 20 : Pípenidic acide	09	R

R : Résistance : ≤ 14

I : Intermédiaire : 15 – 17

S : Sensibilité : ≥ 18

3.Discussion:

Staphylococcus aureus fait partie de la flore de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal. Parasite habituellement inoffensif, il peut provoquer des infections (abcès cutanés, mammites). La contamination du lait peut survenir par l'intermédiaire de porteurs sains ou infectés, ou par l'environnement.

Ils provenaient essentiellement de l'eau utilisée dans les différentes étapes de la traite, des mains des trayeurs et des mamelles.

Chez les bovins, *S. aureus* est isolé dans les narines. On le retrouve dans de petites lésions cutanées et dans les manchons des machines à traire.

La machine à traire, peut en effet infecter **6** vaches qui suivent la traite d'une vache infectée, et enfin l'homme (**Thieulon, 2005**). **Fourichon et al (2004)** cités par **Bouaziz (2005)** montrent que le nettoyage incomplet de la machine à traire permet la survie des agents pathogènes dans les gobelets trayeurs qui contamineraient le trayon en début de traite, La colonisation des trayons peut entraîner l'infection de la mamelle.

S. aureus constitue la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections latentes et les mammites subcliniques ou chroniques. Les mammites étant difficiles à éradiquer, elles représentent la principale source de contamination des laits crus par *S. aureus*. L'excrétion de *S. aureus* dans le lait de quartier varie de **0 à 104-105** bactéries/ml en cas de mammite subclinique et jusqu'à **108** bactéries/ml en cas de mammite clinique (**Asperger, 1994**). Dans notre travail, le taux de contamination du lait de mélange est de **100%** ce qui montre que la prévalence de mammites subcliniques dans les élevages de la wilaya de Tiaret est élevée.

Interprétation des résultats :

Le nombre de souches de *S. aureus* testé varie selon les antibiotiques utilisés.

Pour la pénicilline testée on a obtenu : diamètre 18 qui se traduit par une résistance.

, celui-ci ayant travaillé sur des souches de *S. aureus* isolées à partir de mammites bovines qui ont montré une résistance aux Beta-lactamines.

D'autres souches ont été moins résistantes aux antibiotiques restantes : la Pipenicidic acide .

Lors de notre travail expérimental, on a constaté et confirmé la résistance de *Staphylococcus aureus* à plusieurs antibiotiques dont l'origine est rapportée encore une fois par d'autres auteurs :

Le traitement excessif et abusif des vaches aux antibiotiques par les éleveurs pour diminuer les pertes, augmenter la productivité du troupeau et comme facteur de croissance ont contribué à l'apparition et au développement de cette résistance (Ndorma et Oscar).

Selon Jean-Claude Panisset et Hélène Le Duc, les microbes soumis régulièrement au contact des médicaments dans les aliments d'animaux d'élevage peuvent également devenir résistants à ces derniers et cette résistance risque d'être transmise à l'homme.

Conclusion :

La résistance bactérienne aux antimicrobiens se traduit cliniquement par des échecs thérapeutiques rendant le choix de la molécule ardu. En effet, le test de sensibilité

« l'antibiogramme » permet d'évaluer *in vivo* l'efficacité de ces molécules, classant la bactérie comme sensible, résistante ou de sensibilité intermédiaire pour chaque antibiotique testé.

L'étude des antibiogrammes de *Staphylococcus aureus* d'origine lait mammiteux, met en évidence une grande variation dans la diffusion de la résistance acquise. Les données de la partie expérimentale de cette thèse montrent une évolution significative dans le temps du pourcentage des souches résistantes à des antibiotiques très utilisés tels que la pénicilline et l'érythromycine.

Il faut admettre que les éleveurs administrent des antibiotiques, juste après l'apparition des premiers symptômes, soit suite à une prescription déraisonnée soit à titre frauduleux, même avant l'envoi au laboratoire.

En conclusion, il est impérativement recommandé aux praticiens le recours au laboratoire pour un diagnostic. Un antibiogramme associé permet d'orienter le choix de la molécule à prescrire. Il est également conseillé d'alterner les molécules quant ceci est possible.

Il est impératif de créer des réseaux nationaux de surveillance pour les espèces bactériennes pathogènes pour l'homme et les animaux, selon les recommandations de l'OMS.

Enfin dans l'attente de nouvelles molécules antibactériennes et afin de mieux maîtriser cette résistance chez l'animal et d'éviter ses conséquences chez l'homme, il est impérativement recommandé de laisser en exclusivité certaines molécules pour l'usage humain.

Les annexes :

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10 UI	≤ 28	---	≥ 29	≥ 0,25	----	≤ 0,12	Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux (voir « Tests complémentaires ».) Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les β-lactamases (ampicilline, ticarcilline, pipéracilline....).
Oxacilline (<i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i>)	---	----	----	----	≥ 4	----	≤ 2	<p>Le disque d'oxacilline n'est pas fiable. Tester le disque de céfoxitine à 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative.</p> <p>Pour <i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i> : si l'oxacilline et la céfoxitine sont testées et l'un ou l'autre donne une interprétation « R », il faut répondre « oxacilline résistant ».</p>
Céfoxitine (<i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i>)	30 µg	≤ 21	---	≥ 22	≥ 8	----	≤ 4	
Oxacilline (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i>)	----	----	---	----	≥ 0,5	----	≤ 0,25	
Céfoxitine (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i>)	30 µg	≤ 24	---	≥ 25	---	----	---	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la streptomycine.**
Kanamycine	30 µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 64	32	≤ 16	Pour <i>S.aureus</i> , les souches résistantes à la kanamycine doivent être interprétées « R » à l'amikacine quel que soit le diamètre autour de l'amikacine**.
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23	≥ 8	1-4	≤ 0,5	Détecter la résistance inductible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à érythromycine et clindamycine ».
Clindamycine	2µg	≤ 14	15 – 20	≥ 21	≥ 4	1-2	≤ 0,5	

Tableau de lecture : valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *staphylococcus spp* (En médecine vétérinaire).

Antibiotiques testés	Charge des disques	Valeurs critiques des diamètres d'inhibition (mm)			Valeurs Critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Penicilline	10UI	----	----	≥ 24	----		≤ 0,12	
Ampicilline	10µg	----	----	≥ 24	----		≤0,25	
Erythromycine	15µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 1	0.5	≤ 0,25	Détecer la résistance inductible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à érythromycine et clindamycine ».
Clindamycine	2µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 1	0.5	≤ 0,25	
Tétracycline	30µg	≤ 18	19-22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	Les souches sensibles à la tétracycline sont considérées comme sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Lévofoxacine	5µg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Vancomycine	30µg	----	----	≥ 17	----	----	≤1	Pour les diamètres inférieurs à 17 mm, déterminer la CMI et vérifier l'identification bactérienne.
Pristinamycine**	15µg	< 19		≥ 22	> 2	----	≤ 1	Tester ces 2 molécules avec un inoculum 0,5 MF. Ne pas diluer. (charges SFM)
Rifampicine**	30µg	< 24		≥ 29	> 0,5	----	≤ 0,06	
Chloramphénicol	30µg	≤17	18-20	≥21	≥16	----	≤4	
Gentamicine**	500µg	≤11	----	≥17	>500	----	≤250	

Tableau de lecture: valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *staphylococcus spp* (En médecine vétérinaire).

Antibiotiques testés	Charge des disques	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 49226
Amikacine	30µg	19-26	20-26	18-26	---	---	---
Amoxicilline + Ac.clavulanique	20/10µg	18-24	---	---	---	15-23	---
Ampicilline	10µg	16-22	27-35	---	30-36	13-21	---
Azithromycine	15µg	---	---	---	---	13-21	---
Ac. nalidixique	30µg	22-28	---	---	---	Non déterminé	---
Ac.fusidique	10µg	---	24-32	---	---	---	---
Aztréonam	30µg	---	---	23-29	---	---	---
Céfazoline	30µg	21-27	---	---	---	---	---
Céfalotine	30µg	15-21	---	---	---	Non déterminé	---
Céfoxitine	30µg	23-29	23-29	---	---	---	---
Céfotaxime	30µg	29-35	25-31	---	31-39	31-39	---
Céftriaxone	30µg	29-35	---	---	---	---	39-51
Ceftazidime	30µg	---	---	22-29	---	---	---
Ciprofloxacine	5µg	30-40	---	25-33	---	---	48-58
Colistine	10µg	11-17	---	11-17	---	---	---
Chloramphénicol	30µg	21-27	19-26	---	23-27	31-40	---
Clindamycine	2µg	---	24-30	---	19-25	---	---
Doxycycline	30µg	---	23-29	Non déterminé	---	---	---
Erythromycine	15µg	---	22-30	---	25-30	---	---
Fosfomycine	200µg	22-30	---	Non déterminé	---	---	---
Furanes	300µg	20-25	18-22	---	---	---	---

Tableau de lecture : valeurs limites des diamètres des zones d'inhibitions pour les souches de références utilisées pour le contrôle de qualité.

Antibiotiques testés	Charge des disques	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 49226
Gentamicine [™]	10µg	19-26	19-27	17-23	----	----	----
Imipénème	10µg	26-32	----	20-28	----	----	----
Kanamycine	30µg	----	19-26	----	----	----	----
Lévofloxacine	5µg	----	25-30	----	20-25	----	----
Nétilmicine	30µg	----	----	17-23	----	----	----
Ofloxacine	5µg	----	24-28	----	----	31-40	-----
Oxacilline	1µg	----	18-24	----	≤ 12	----	----
Pénicilline	10UI	----	26-37	----	24-30	----	26-34
Pipéracilline	100µg	----	----	25-33	----	----	----
Rifampicine	5µg	----	26-34	Non déterminé	25-30	----	----
Spectinomycine	100µg	----	----	----	----	----	23-29
Tétracycline	30µg	18-25	24-30	----	27-31	14-22	30-42
Ticarcilline	75µg	----	----	21-27	----	----	----
Ticarcilline + Ac. clavulanique	75/10µg	----	----	20-28	----	----	----
Tobramycine	10µg	----	----	20-26	----	----	----
Triméthoprime + sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	23-29	24-32	----	20-28	24-32	----
Teicoplanine	30µg	----	15-21	----	----	----	----
Vancomycine	30µg	----	17-21	----	20-27	----	----

Tableau de lecture : valeurs limites des diamètres des zones d'inhibitions pour les souches de références utilisées pour le contrôle de qualité.

Références bibliographiques :

1. Aggad.H, Mahouz .F, Ahmed Ammar. Y, Kihal.M, 2009. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien Revue de médecine vétérinaire 160(12):590-595.
2. Ait. Addelouahab, N. (2001) : Microbiologie alimentaire : Office des publications universitaires. Office des publications universitaires. Edition 1.04.4362 : 147.
3. Alais C 1965 : Science du lait- Principes des techniques laitères 2ème edd. SE PAIC,Paris 129.
4. Alais C, 1984. Science du lait. Sepaic, Pairs.
5. Alais C. (1975). Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris
6. Allion A.2004. Mise au point d'une technique rapide pour déterminer in situ L'efficacité bactéricide d'agents antimicrobiens. Thèse de Doctorat l'ENSIA.
7. Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R et Turgeon H., (2002) Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait In VIGNOLA C.L, Science et technologie du lait – Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages).
8. ARGENTE G., LARDOUX S., LE BERRE K., LABBE J-F. (2005) Valeur de l'observation clinique de symptômes simples de mammite pour prédire les bactéries en cause.Bull. Group. Tech. Vét., 32, 39-46
9. Badinand F. (1994). Maîtrise du taux cellulaire du lait. Rec. Méd. Vét., n°170
10. BARONE R. (1978) Mamelles. In : Anatomie Comparée des Mammifères Domestiques, tome 3 : splanchnologie, fascicule 2, Vigot, Paris, 449-501
11. Benchohra M., Fernane H., Tirtouil A., and Benbarek . H, 2016. Assessing Compositional and Sanitary Quality of Pasteurized Milk Marketed in Tiaret District, Algeria . Global Veterinaria, 16 (6): 544-549.
12. Benhedane Née Bachtarzi Nadia, 2012 .Qualité microbiologique du lait cru destine a la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien thèse de magister en sciences alimentaires, université de Constantine – Algérie-
13. Benhedane Née Bachtarzi Nadia, 2012 .Qualité microbiologique du lait cru destine a la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien thèse de magister en sciences alimentaires, université de Constantine – Algérie-
14. BILLON P., MENARD J-L., BERNY F., VAUDIN V. (2001) La détection des mammites par mesure de la conductivité électrique du lait. Bull. Group. Tech. Vét., 12, 35-39
15. Blanc ,1982 test de la xanthine-oxydase pour détecter le lait de vache dans le lait de chèvre.

16. Bonfoh B., Wasem A., Traoré A. N., Fané A., Spillmann H., Simbé C. F., Alfaroukh I. O., Nicolet J., Farah Z., Zinsstag J. Microbiological quality of cows' milk taken at different intervals from the udder to the selling point in Bamako (Mali) *Food Control*. 2003;14(7):495–500. doi: 10.1016/S0956-7135(02) 00109-3.
17. BOSQUET G, ENNUYER M, GOBY L, MARTIN S, SALAT O, SANDERS P, *et al. Le praticien face au ciblage du traitement en lactation des mammites. Boehringer Ingelheim*. 2005, 45 p.
18. BOSQUET G, FAROULT B, LABBÉ J-F, LE PAGE P, SÉRIEYS F. *Référentiel Vétérinaire 2013 pour le traitement des mammites bovines*. 2013. SNGTV, Paris, France. 100 p
19. Boukhatem M. N, Ferhat M. A. , Hadj Mohamed R , Lalaoui N , 2015.prevalence and antibiotic resistance of staphylococci isolated from kolea hospital (algeria) *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 7(2), 260-270.
20. Bremer P. J., Fillery S., McQuillan A. J. 2006. Laboratory scale clean-in-place (CIP) studies on the effectiveness of different caustic and acid wash steps on the removal of dairy biofilms. *Int. J. Food Microbiol.* 106: 254–262.
21. Brule G, 1987 : Les minéraux. In Cepil (1987). *Le lait matière première de l'industrie laitière*. Cepil-INRA, Paris.87-98.
22. Bylund G. 1995. *Dairy processing handbook-Tetra pak processing systems*. Lund, Sweden, 436 p.
23. Cayot P, Lorient D, 1998. *Structures et tecno fonctions des protéines du lait*. Tec et Doc. Lavoisier, Paris.
24. Chaalal .W ,2013. Occurrence et profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires. Mémoire de Magister, Option: Microbiologie Fondamentale et Appliquée. Université d'Oran-Algérie-.
25. Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis*2001 ; 7 : 178-82.
26. Champagne C, Giroux R, Goulet J, 1984. *Science et technologie du lait*, 2 ème édition fondation de technologie laitière.
27. Charron G (1986) .*Les productions laitières : les bases de la production vol 01 Technique et documentation*, Lavoisier -paris. p45, 52, 139, 144, 157,158.
28. Charron G. (1986). *Les produits laitiers Vol1 les bases de la production*. Edition Tec et Doc. 347p.
29. CIPC Lait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011). *Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02*
30. Contreras. C. P. Á, Silva L. N. N, Ferreira D. C.G, Ferreira J. S, Almeida R. C.C., 2015. Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Raw Hamburgers and Ready-to-Eat Sandwiches Commercialized in Supermarkets and Fast Food Outlets in

31. Coulon J-B. et Hoden A. (1991). Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. INRA Prod. Anim., 4 (5).pp: 361-367.
32. Crapelet C. et Thibier M. (1973). La vache laitière reproduction Génétique Alimentation Habitat Grandes maladies. Edition Vigot Paris. pp: 114-116.
33. Debry G, (2001) Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 21 (566 pages).
34. Dieng M. (2001). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché dakarais. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal
35. DUREL L, GUYOT H, THÉRON L. *Vade-mecum des mammites bovines*. 2011. Éditions Med'Com, Paris, France. 270 p
36. El-Anzi O, 2014. Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylococcus aureus isolées au centre hospitalier ibn sina de rabat. Thèse de doctorat en médecine. Université mohammed V-suisi – Maroc –
37. Elhamzaoui S., Benouda A., Elouennass M., Méd. Malad. Infect. 2009, 39(12), 891-895.7.
38. FABRE J-M., MORVAN H., LEBREUX B., HOUFFSCHMITT PH., BERTHELOT X. (1997) Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France, partie 1 : mammites cliniques Bull. Group. Tech. Vét., 3-B, 17-23
39. Fox PF *et al* (1987) : Food analysis “factors affecting the quality of dairy products” Chemistry - University College, Departement of dairyand food, republic of Ireland
40. Fredot E, (2005) Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier:10-14 (397 pages).
41. Fredot E, (2005) Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier:10-14 (397 pages).
42. Fredot E., (2006) Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 25 (397 pages)
43. GHAOUES (2011) Classification des protéines.
44. Gillis J.C, (2006). Définitions : Qualité – Assurance – Certification, p 853 – 858 in « Le fromage de la science à l'assurance qualité », coordinateurs : Andreeck K, Gillis J.C, Ed. Tec et Doc, Paris, p 891.
45. Goursaud J, (1985). Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet .F.M. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
46. Guiraud J, (1998). Microbiologie alimentaire, DU NORD, Paris p 121.
47. Guiraud J. et Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. 119p.

48. Guiraud J.P. (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DU NORD. Paris. pp: 136-139.
49. Guiraud J.P. et Rosec J.P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. 95p
50. Hylan et al, 1984. Principals of dairy technology . University Mousse. Iraq.
51. ISO 8402 .En ligne <<[http www.ebanque-pdf.com/fr_norme-iso-8402-documentation.html](http://www.ebanque-pdf.com/fr_norme-iso-8402-documentation.html)>>.
52. ISO. 6888. 1983. Microbiologie des aliments: Directives générales pour le dénombrement de *Staphylococcus aureus* – Méthode par comptage des colonies.
53. ISO. 7218. 2003. Microbiologie des aliments : Règles générales pour les examens Microbiologiques. pp 6.
54. ISO. 8261. 2001. Lait et produits laitiers – Lignes directrices générales pour la préparation des échantillons pour essais, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologie. pp 4.
55. ISO. Norme 3100- 2. 1988. Viandes et produits à base de viande. Echantillonnage et préparation des échantillons pour essais (préparation des échantillons pour essai en vue de l'examen microbiologique). pp 5.
56. Jakob E, Winkler H. et Haldemann J. (2009). Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. F. pp :5-31
57. Jakob E. et Hänni J-P. (2004). Fromageabilité du lait. Edition, Agroscope Liebfeld Posieux. Groupe de discussions N° 17F.
58. Jakob E. et Hänni J-P. (2004). Fromageabilité du lait. Edition, Agroscope Liebfeld Posieux. Groupe de discussions N° 17F
59. Jakob E., Winkler H., Schaeren W., Amrein R. et Geinoz M. (2011). La qualité du lait cru un défi permanent. Edition Agroscope Liebfeld-Posieux forum n°78 f.pp :5- 17.
60. Jakob E., Winkler H., Schaeren W., Amrein R. et Geinoz M. (2011). La qualité du lait cru un défi permanent. Edition Agroscope Liebfeld-Posieux forum n°78 f.pp :5- 17.
61. Jean C, et Dijon C, (1993) .Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3.
62. Jean C, et Dijon C, (1993) .Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3.
63. Jeantet R., Croguennec T, Mahaut M., Schuck P. et Brule G, (2007) . Les produits laitiers ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier: 1-3-13-14-17 (185 pages).
64. Juillard, V, Richard, J, Le lait, 1996, P 24 – 26.
65. Kitai S., Shimizu A., Kawano J., Sato E., Nakano C., Uji T., Kitagawa H. 2005. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan. Journal of Veterinary Medicine 67, 107–110.
66. Kuzdzal . S, Mocquot .G, 1960 : Observations sur les qualités organoleptiques du lait. Ann technol. Agric1,5-52.

67. Kuzdzal S, 1987. La matière grasse - Le lait matière première de l'industrie laitière. INRA.
68. LAGO A, GODDEN SM, BEY R, RUEGG PL, LESLIE K. The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk withholding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes. *Journal of Dairy Science*. 2011A, **94**, 4441-4456.
69. LAGO A, GODDEN SM, BEY R, RUEGG PL, LESLIE K. The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: II. Effects on lactation performance, including clinical mastitis recurrence, somatic cell count, milk production, and cow survival. *Journal of Dairy Science*. 2011B, **94**, 4457-4467.
70. LE PAGE P., (1999) Les cellules du lait et la mamelle
In : Cellules somatiques du lait, Journées nationales Groupements techniques Vétérinaires INRA, Nantes, 26-27-28 mai, 7-13
71. Lee, J.H., 2003. Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 6489–6494.
72. Lemire G. (2007). Évaluation de la qualité du lait et de la santé du troupeau laitière en régie biologique. Edition l'envol lait biologique. Québec. 9p.
73. LERAY O. (1999). Méthodes de comptage des cellules du lait et contrôle qualité
In : Cellules somatiques du lait, Journées nationales Groupements techniques Vétérinaires INRA, Nantes, 26-27-28 mai, 85-90
74. Luquet F. M. (1985). Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris
75. Luquet F. M. (1985). Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.
76. Luquet F. M. (1985). Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.
77. Mahieu H. (1985). Modification du lait après récolte. Dans : Lait et produits laitiers. Vaches, brebis, chèvres. Luquet F.M tome 1. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris
78. Mahouz. F, 2007. Suivi et évaluation de la qualité hygiénique du lait de vache dans la région de TIARET. Mémoire de magistère, Option ; Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale. Université de Tiaret –Algérie –
79. Mastouri M., Nour M., Ben Nejma M., Bouallegue O, et al. 2010. Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. *Pathol. Biol.* 54, 33–36.
80. Mathieu J. (1998). Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
81. Mathieu J.,(1999) Initiation à la physicochimie du lait, Tec et Doc, Lavoisier, Paris: 3-190 (220 pages)

82. Meyer C. et Denis J.P (1999). Elevage de la vache laitière en zone tropicale. Edition Quae, CTA, presses agronomiques de Gembloux.
83. Morrissay PA. (1995). Lactose : chemical and physicochemical properties. dans : Developments in dairy chemistry 3. (FOX PF). Elsevier, London.
84. Normanno G., Corrente M., La S.G., Dambrosio A., Quaglia N.C., Parisi A., Greco G., Bellacicco A.L., Virgilio S., Celano G.V. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus*.
85. Peereboom J.W.C 1969, Modern views on the physical structure of the globules in milk and cream. Fette, Seifen Antstrichmittel, 71 (4),414-322.
86. Pesavento G., Ducci B., Comodo N., Lo Nostro. 2007. A Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). J. Food Control 18, 196–200.
87. Petransxiene D. et Lapiéd L. (1981). Qualité bactériologique du lait et produits laitiers. Analyses et tests. Edition Tec.& Doc, Paris.
88. Pointurier H., (2003) La gestion matière dans l'industrie laitière, Tec et Doc, Lavoisier, France: 64 (388 pages).
89. Pougheon S .et Goursaud J., (2001) Le lait caractéristiques physicochimiques In DEBRY G., Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).
90. POUTREL B. (1985) Généralités sur les mammites de la vache laitière, processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle Rec. Méd. Vét., 161, (6-7), 497-511
91. PUYT J-D, GUÉRIN-FAUBLÉE V, ARCANGIOLI M-A, PROUILLAC C. *Vade-mecum d'antibiothérapie bovine*. 2013. Éditions Med'Com, Paris, France. 190 p.
92. QUINN P., CARTER M., MARKEY B. et CARTER G. (1994) Mastitis. In : Clinical veterinary microbiology, Mosby Year Book, London, 327-345
93. Rattray W, Gallman P, Jelen P, 1997. Nutritional, Sensory and physico-chemical characterization of protein standardized UHT milk, lait
94. Rebiahi S. A ,2012.Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibio résistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat en biologie, option microbiologie. Université de Tlemcen – Algérie-.
95. Reumont P, (2009) Licencié Kinésithérapie.En ligne <<<http://www.medisport.be>>>
96. Rheotest M , (2010) Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK – Produits alimentaires et aromatisants .En ligne
97. ROBERSON JR, WARNICK LD, MOORE G. Mild to moderate clinical mastitis: efficacy of intramammary amoxicillin, frequent milk-out, a combined intramammary amoxicillin, and frequent milk-out treatment versus no treatment. *J. Dairy Sci.* 2004, **87**, 583-592

98. SERIEYS F. (1985) (1) Utilisation de la numération des cellules du lait de vache dans la lutte contre les mammites. Thèse de Docteur Ingénieur en Sciences agronomiques. Ecole Nationale Supérieure de Montpellier, octobre 1985, 240p.
99. SERIEYS F. (1985) (2) Interprétation des concentrations cellulaires de lait individuel de vache pour le diagnostic de l'état d'infection mammaire. Ann. Rech. Vét., 16, (3), 263-269
100. SERIEYS F. (1985) (3) Concentration cellulaire du lait individuel de vache : influence de l'état d'infection mammaire, du numéro, du stade de lactation et de la production laitière. Ann. Rech. Vét., 16, (3), 255-261
101. SERIEYS F., GICQUEL-BRUNEAU M. (2005) Les souches de *Staphylococcus aureus* responsables de mammites subcliniques sont-elles homogènes intra-troupeau pour la production de β -lactamase et la résistance à la pénicilline ? In : Journées Nationales des Groupements Techniques Vétérinaires, Nantes, 25-26-27 mai, 687-690
102. Stoll W. (2003). Vaches laitières: l'alimentation influence la composition du lait. RAP Agri. N° 15/2003, vol. 9, Suisse.
103. Thapon J.L., (2005) Science et technologie du lait, Agrocampus-Rennes, France: 14(77 pages).
104. Toureau V., Bagieu V. et Le Bastard A-M. (2004). Une priorité pour la recherche: la qualité de nos aliments. Les recherches sur la qualité du fromage. INRA mission communication.
105. Vierling E., (2003) Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine: 11(270 pages).
106. Vignola C. (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-7.
107. Vignola C.L., (2002) Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34 (600 pages).
108. Walstra P, 1999. On the stability of casein micelles. J. dairy Sci.
109. Whitney R, Brunner J, Ebner K et al, 1976. Nomenclature of the proteins of cow's milk: Fourth revision . J. dairy Sci.
110. Wolter R. (1988). Alimentation de la vache laitière. 3^{ème} édition. Editions France Agricole. Paris.