

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie appliquée

THEME

***ETUDE DE L'ANTIBIORESISTANCE DES ISOLATS
DE MAMMITES SUBCLINIQUE BOVINE AU NIVEAU
DE LA REGION DE LAGHOUAT***

Présenté par : Khemili Fatna

Devant le jury :

Président: Mr Chaibi Rachid

Rapporteur : Mr Benaceur Farouk

Co-Rapporteur : Mr Chetitha Mohamed

Examineur: Mr Gouzi Hicham

Maitre de conférence classe A

Maitre assistant classe A

Maitre assistant classe A

Maitre de conférence e classe A

Soutenu publiquement le : 14mai 2018.

Dédicace

Je dédie ce travail à ma mère qui ne m'a pas manqué de tendresse, et à mon père pour ces sacrifices et ces encouragements.

A mes chères sœurs et frères, ma chère cousine DJAMILA.

A mon mari, mes enfants IHCEN, IMENE, MOHAMED, à toute ma famille.

A toute la famille khemili et khacheba.

Fatna

Remerciements

J'adresse mes remerciements particulièrement à :

Mr BENNACER Farouk maitre assistant à l'université de Laghouat qui m'a fait l'honneur d'encadrer ce travail, pour la confiance qu'il m'a accordé dans la réalisation de ce travail, et pour m'avoir guidé par son sens d'accueil, qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

Je remercie *Mr Chetitha Mohamed* maitre assistant à l'université de Laghouat pour son aide.

Je tiens à remercier :

Mr Chaibi Rachid maitre de conférences A à l'université de Laghouat d'avoir accepté la présidence de jury.

Mr Gouzi Hicham maitre de conférences A à l'université de Laghouat pour l'examen de mon travail.

Mes vifs remerciements à *Mme Lounici Safia* maitre assistant à l'université de Laghouat qui m'a soutenu dans les moments les plus durs, ...

Enfin je remercie toute personne ayant contribué à l'élaboration de ce travail.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : synthèses bibliographique	
1. Définition de la mammite.....	3
1.1 Mammites cliniques	3
1.2 Mammites subcliniques	3
2. Anatomie de la mamelle	4
3. Étiologie.....	4
3.1. Bactéries majeures	6
3.1.1. Escherichia coli	6
3.1.2. Le Staphylocoque coagulase positif	6
3.1.3. Les Staphylocoques coagulase négatif	6
3.2. Bactéries mineures	7
3.2.1. Streptococcus uberis	7
3.2.2. Pseudomonas aeruginosa	7
3.2.3. Listeria monocytogenes et Salmonella spp	7
3.2.4. Levures, champignons et algues	8
4. Diagnostic.....	8
4.1. Diagnostic clinique.....	8
4.2. Dépistage de la mammite subclinique.....	8
4.3. Examen bactériologique.....	8
4.4. Traitement.....	9
4.5. L'antibiotique.....	9
5. Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	10
5.1. Définition de l'antibiorésistance bactérienne.....	10
5.2. Types de résistance.....	11
5.2.1. Résistance naturelle.....	12
5.2.2. Résistance acquise.....	12

Chapitre II : Matériels et méthodes

11. Prélèvement	12
2.Réalisation du prélèvement.....	12
3. Matériel	12
4. Analyses bactériologique.....	12
4.1. Isolement	12
4.2. Identification des germes	13
4.2.1. Coloration de Gram	13
4.2.2. Identification des staphylocoques.....	13
4.2.3. Identification des entérobactéries et pseudomonas.....	14
5. Antibiogramme par diffusion des disques	16
6. Test complémentaire obligatoire.....	17
6.1. Recherche de la résistance de <i>Staphylococcus spp</i> , à l'Oxacilline	18
6.2. Recherche de la beta lactamase chez les entérobactéries et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
6.2.1. Définition d'une BLSE	18
6.2.2. Méthodes de détection de la BLSE	18
6.2.2. 1. Test de synergie	18
6.2.2.2. Test de confirmation ou technique du double disque	19
7. Contrôle de qualité	20

Chapitre III : Résultats et discussion

1- Isolats de mammites subcliniques	21
2. Résultats de l'antibiogramme.....	22
2.1. Résistance aux antibiotiques des isolats de staphylocoques.....	23
2.2. Résistance aux antibiotiques des isolats d'entérobactéries.....	25
2.3. Résistance aux antibiotiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
Conclusion	27
Références bibliographiques	28
Annexes	31

Liste des tableaux

Tableau 01 : Comparaison des propriétés des antibiotiques.....	08
Tableaux 02 : Recherche de la résistance à l'Oxacilline et interprétation des tests	17
Tableau 03 : Pourcentage d'infection.....	21
Tableau 04 : Fréquence des germes isolés	21
Tableau05 : Résultat de l'identification biochimique des bactéries par les galeries API.....	33
Tableau06 : Résultat de l'identification biochimique des bactéries par les galeries API.....	36
Tableau07 : Liste des antibiotiques à tester pour Entérobactéries (standardisation de l'antibiogramme 6 eme édition)	38
Tableau08 : Liste des antibiotiques à tester pour Staphylococcus SPP.....	39
Tableau 09 : Liste des antibiotiques à tester pour Pseudomonas	40
Tableau10 : Valeurs critiques CA-SFM : (standardisation de l'antibiogramme 6eme édition.....	40
Tableau11 : Valeurs limites du diamètre des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité et charge des disques d'antibiotiques utilisés.....	41
Tableau12 : Principaux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire en Algérie.....	42

Liste des figures

Figure01 : fréquence des germes isolés	22
Figure02 :Sensibilités des isolats de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques.....	23
Figure03 : isolat de <i>Staphylococcus coagulase négatif</i> résistante aux isoxazolyl pénicillines	24
Figure 04 : Sensibilités des isolats de <i>Staphylococcus coagulase négatif</i> aux antibiotiques.	24
Figure 05 : Antibiogramme d'un isolat de <i>Staphylococcus coagulase négatif</i> sensible aux antibiotiques	25
Figure 06 : Antibiogramme d'une souche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> productrice de BLSE.....	26
Figure07 : Galerie API 20 ^E	33

Liste des abréviations

ADH : L'arginine-dihydrolase
AMC : amoxicilline+acide clavulanique
ATM : aztreonam
ARA : Arabinose
AMY: Amygdaline
BLSE : enzyme beta lactamase
CAZ : ceftazidime
CIT : citrate de simons
CMI : concentration minimale inhibitrice
CTX : Cefotaxime
C3G : céphalosporines de 3ème génération
GEL : gélatine de kohn
INO: Inositol
IND: indol
LDC : Lysine-décarboxylase
MAN: Mannitol
MEL: Melibiose,
OXA : oxacilline
OMS : organisation mondial de la santé
ODC : L'ornithine-décarboxylase.
ONPG : béta-galactosidase
RHA: Rhamanose
SAC: Saccharose
SCN : staphylocoque coagulase négatif
SOR: Sorbitol
TCC : Ticarcilline+acide clavulanique
VP : Voges-Proskauer

Introduction

Introduction

En Algérie, comme dans la plupart des pays, les mammites bovines constituent une Pathologie dominante dans les élevages bovins laitiers. Cependant malgré la fréquence des mammites subcliniques et cliniques dans les élevages bovins laitiers dans les élevages algériens **Niar et al. (2000) ; Bouaziz et al.(2000) Benmounah,(2002) ; Heleili,(2003)**, il faut signaler le manque d'études approfondies, indispensables pour cerner les facteurs de risque associés à ces infections mammaires ainsi que la connaissance des bactéries responsables.

Les mammites cliniques non accompagnées de signes généraux (mammites subcliniques) sont souvent des infections récentes et de localisation parenchymateuse superficielle. **Bosquet et al. (2013)**.

En ce qui concerne les agents pathogènes de la glande mammaire, Ils sont classés en deux groupes distincts; les agents contagieux et les agents Environnementaux. Les agents contagieux se sont adaptés afin de survivre dans la glande mammaire et sont principalement transmis d'une vache à l'autre ou d'un quartier à l'autre d'une même vache lors de la traite. Les agents environnementaux, quant à eux, sont des envahisseurs opportunistes et sont, typiquement, rapidement éliminés de la glande mammaire.

Les antibiotiques sont une classe thérapeutique très préconisée tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire, ils sont essentiellement utilisés dans le traitement et la prévention de nombreuses maladies infectieuses d'origine bactérienne.

En Algérie, la problématique de l'antibiorésistance est un peu plus connue et mieux étudiée en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire toutefois les mesures de surveillance et de contrôle restent très précaires. L'évaluation du risque de développement de la résistance acquise aux antibiotiques, conséquence de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux, nécessite des données en termes de prévalence des bactéries pathogènes pour l'homme et l'animal, de pourcentage de résistance par espèce bactériennes de lien avec l'utilisation des antibiotiques.

Le but de la présente étude concernant les mammites subcliniques a été mené pour déterminer :

- la nature des germes responsables de ces infections.
- la prédominance des microorganismes isolés.

- le comportement des isolats (Antibiorésistance) par rapport aux différents agents antimicrobiens.

La première partie est une synthèse bibliographique qui résume les germes responsables de la mammite bovine ainsi que la notion de résistance des bactéries aux antibiotiques.

La deuxième partie du travail est expérimentale, c'est une bactériologie de prélèvements de lait de vache provenant de deux de fermes situe dans la région de Laghouat les germes isoles sont identifiés et testés par un antibiogramme, le travail est achevé par une discussion des résultats et une conclusion.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

1. Définition de la mammite

La mammite bovine est une inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle de la vache. Elle est généralement septique et provoquée la plupart du temps par une infection bactérienne. Des mammites aseptiques existent cependant elles sont rares et provoquées par des traumatismes locaux, des toxiques ou des désordres physiologiques **Rémy, (2010)**. Dans le langage courant, le terme « mammite » désigne donc les infections intra-mammaires bactériennes mais d'autres agents pathogènes peuvent occasionner des infections de la mamelle comme des levures ou des algues.

On distingue classiquement les mammites sans signes cliniques associées appelées « mammites subcliniques » et les mammites avec signes cliniques associées qualifiées de « mammites cliniques».

1.1. Mammite clinique

Les mammites cliniques sont définies par la présence de symptômes fonctionnels, elles entraînent systématiquement une modification du lait dans son aspect, sa texture et dans la quantité produite (grumeaux, pus, caillots sanguins, etc.). Les mammites cliniques peuvent être associées à des signes locaux (douleur, chaleur, œdème, rougeur, etc.) et/ou généraux (hyperthermie, abattement, anorexie, etc.) **Rémy, (2010)** 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, déshydratation, troubles locomoteurs...). On parle alors de mammite suraiguë.

1.2. Mammite subcliniques :

Par définition, les mammites subcliniques sont asymptomatiques. Les animaux atteints ne présentent ni symptômes fonctionnels (pas de modification du lait), ni symptômes locaux (pas de signes externes d'inflammation), ni symptômes généraux. Ces mammites se traduisent uniquement par une réaction immunitaire mise en évidence indirectement par une augmentation de la concentration en cellules somatiques **Rémy, (2010)**.

Les mammites subcliniques, 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.

2. Anatomie de la mamelle

La mamelle de la vache est constituée de quatre quartier séparés qui comportent chacun un trayon, Ils contiennent des alvéoles glandulaires ou incini mammaires qui formes de lactocytes, synthétisent le lait, ces alvéoles sont entourées par un tissu parenchymateux et sont reliées à la citerne de La glande est de volume moyen via les tubules et les canaux galactophores ; le lait secrètes par une glande ne peut pas passer par une autre glande.

3. Étiologie

Trois facteurs essentiels ont été impliqués dans les infections mammaires chez la vache. Le germe est considéré comme l'agent déterminant tandis que l'animal et son environnement sont jugés comme des facteurs favorisants **Hanzen ,(2006)**.

La majorité des mammites sont d'origine bactérienne. Il est décrit plus de 200 espèces bactériennes différentes provoquant des mammites chez les bovins dans la littérature scientifique **Blowey et Edmondson,(2010)**.

De nombreux germes ont été isolés et rendus responsables de mammites. Ils se distinguent en germes contagieux et en germes d'environnement, groupes au sein desquels on distingue des pathogènes majeurs et mineurs.

Les germes pathogènes majeurs contagieux comprennent le *Streptococcus agalactiae* et le *Staphylococcus aureus* coagulase positif et les germes pathogènes majeurs d'environnement telle que *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella sp*, **Vestweber et Leipold, (1993)**

Les germes pathogènes mineurs contagieux comprennent le Staphylocoque coagulase négatif et le *Corynebacterium bovis* tandis que les germes pathogènes mineurs d'environnement regroupent les champignons et les levures.

D'autres germes responsables de maladies infectieuses contagieuses induisent également de temps à autre des troubles mammaires : *brucella*, *mycobactérium tuberculosis*, *bacillus anthracis*, virus de la leucose et de la fièvre aphteuse **Vestweber et Leipold,(1993)**.

3.1. Bactéries majeures

3.1.1. Escherichia coli

C'est un bacille Gram négatif provenant des fèces des animaux et se développant dans la litière ou les aires de couchage (logettes), souillées par ceux-ci. La majorité des infections intra mammaires à *E. coli* ont lieu au début ou à la fin du tarissement **Smith et al, 1985; Blum et al (2000)**. Elles demeurent subcliniques jusqu'au moment de la parturition.

E. coli et certaines entérobactéries peuvent cependant échapper à la réponse immunitaire grâce à leur capsule polysidique située autour de la paroi bactérienne. Elles sont moins sensibles aux immunoglobulines, aux neutrophiles et au complément **Serieys et Seegers, (2002)**.

3.1.2. Le Staphylocoque coagulase positif

Le Staphylocoque coagulase positif est un des principaux germes responsables de mammites dans l'espèce bovine. Son danger vient de ce que dans 80 % des cas, il se manifeste par des mammites subcliniques. Sa présence est souvent associée à celle de lésions cutanées au niveau des mains du trayeur. Son action pathogène suppose sa pénétration par le canal du trayon. La contamination des vaches se fait surtout par la traite. Il entraîne la présence d'un taux d'infection subcliniques très élevé accompagné d'un taux d'infections cliniques faible. La dissémination du germe est bien contrôlée par le trempage ainsi que par le traitement au tarissement. Il est responsable de mammites subcliniques et cliniques (mammitte gangréneuse) **Vestweber et Leipold,(1993)**.

3.1.3. Les Staphylocoques coagulase négatif

La mise en place de mesures de lutte contre les mammites contagieuses et d'environnement n'est sans doute pas étrangère à l'émergence de mammites imputables à des germes contagieux dits mineurs tels que les Staphylococques coagulase négatif *Staphylococcus hyicus*, *chromogènes*, *warneri*, *epidermidis*, *simulans*, *xylosus* et *sciuri* (CNS: Coagulase

négatives *Staphylococcus*). Ces germes sont des hôtes normaux des animaux. Ils sont fréquemment isolés sur la peau, les poils, le canal du trayon ou dans le lait prélevé

aseptiquement. Ils sont responsables de taux cellulaires compris entre 200 et 400.000, voire 500.000 dans 10 % des cas. La prévalence de leurs infections semble être plus élevée chez les primipares et/ou dans les jours qui suivent le vêlage. La durée des infections dépasse fréquemment 200 jours. Elles sont très souvent éliminées spontanément au cours des premières semaines de la lactation. Leur manifestation est rarement clinique. Elle est plus élevée dans les troupeaux qui n'ont pas recours au trempage. Certains auteurs ont avancé l'hypothèse qu'une réduction de ces infections pourrait contribuer à augmenter la fréquence de celles imputables aux germes contagieux et d'environnement Craven et Raven et Williams, (1985).

3.2. Bactéries mineures

3.2.1. *Streptococcus uberis*

Ce germe est responsable en général de mammite clinique. Il est présent comme *Escherichia coli*, dans la litière souillée par les fèces des animaux, mais aussi sur la peau et les muqueuses ainsi que les trayons et leurs lésions, et le matériel de traite ou il peut persister.

3.2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Provoque des mammites cliniques aiguës. La contamination est rare, mais elle peut concerner plus du tiers du troupeau car l'origine de l'infection est l'eau contaminée utilisée pour nettoyer le matériel de traite ou laver les trayons. Les mammites à *Pseudomonas* spp sont difficiles à traiter car la bactérie possède la capacité de réaliser des biofilms dans la mamelle, limitant l'action du système immunitaire et les antibiotiques. Les chances de succès des traitements sont faibles **Rémy, Blowey et Edmondson, (2010)**

3.2.3. *Listeria monocytogenes* et *Salmonella* spp :

Listeria monocytogenes est un bacille Gram positif de la famille des *Listeriaceae* et *Salmonella* spp un bacille Gram négatif de la famille des entérobactéries. Ces deux bactéries importantes en termes de santé publique, et en particulier de sécurité sanitaire des aliments, provoquent rarement des mammites, celles-ci sont le plus souvent subcliniques.

3.2.4. Levures, champignons et algues

Les levures (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*), champignons (*Aspergillus fumigatus*) et algues (*Prototheca zopfii*) responsables de mammites sont des agents pathogènes mineurs. Ils représentaient moins de 2% des isolats dans l'étude de **Bidaud et al. (2010)**.

4. Diagnostic

4.1. Diagnostic clinique

Le diagnostic clinique des mammites est certes important au niveau individuel, mais encore, plus au niveau du troupeau.

L'examen de la mamelle et du lait doit permettre un dépistage simple et efficace des mammites cliniques. Une détection précoce améliore les chances de guérison par la mise en place d'un traitement précoce adapté.

Les mammites subcliniques ne peuvent pas être détectées par la clinique puisqu'elles n'entraînent des modifications ni du lait ni de la mamelle et que les animaux atteints ne présentent pas de signes cliniques.

4.2. Dépistage de la mammite subclinique

Le diagnostic des mammites subcliniques repose d'une manière générale sur la mise en évidence des conséquences cellulaires (modifications cytologiques), chimiques, et finalement bactériologiques de l'état inflammatoire de la mamelle **Nielen, (1992)**.

4.3. Examen bactériologique

L'examen bactériologique du lait consiste à mettre en évidence et à identifier des bactéries pathogènes présentes dans le lait. La glande mammaire est normalement stérile, l'isolement d'une bactérie dans son lait signifie qu'elle est atteinte d'infection intra-mammaire. L'examen bactériologique du lait est considéré comme la méthode de référence pour déterminer l'étiologie d'une mammite. L'identification d'une bactérie signe une infection ou une contamination lors

du prélèvement. Un antibiogramme est très souvent associé au diagnostic bactériologique afin de tester la sensibilité des germes isolés aux antibiotiques susceptibles d'être utilisés **Sandholm et al , (1991)**.L'objectif est d'identifier la présence des résistances acquises et d'orienter le choix du traitement antibiotique utilise même si l'activité d'un antibiotique in vitro diffère de celle in vivo.

4.4. Traitement

L'examen bactériologique du lait identifiant, la cause de l'infection (présence de bactéries) est le seul diagnostic précis, la guérison peut être considérer comme l'élimination de la bactérie. Les antibiotiques sont en effet massivement utilisés pour traiter les mammites. Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle ou synthétisée chimiquement capable d'inhiber spécifiquement la croissance des microorganismes par des mécanismes particuliers jouant sur les mécanismes vitaux **Gogny et al(2001) Morin et al (2005)**.

4.5. L'antibiotique

Les familles d'antibiotiques se distinguent par leur aspect pharmaceutique, leur distribution, leur spectre d'activité, leur mode d'action tableau 01.

Tableau 01 : Comparaison des propriétés des antibiotiques Faroult et Serieys, (2005).

Famille	Principaux représentants	Spectre	Mode d'action	Distribution
Pénicillines G	Benzylpénicilline Pénéthacilline	Gram+ (strepto et staphylo à pénicillinases-)	Bactéricide	Extracellulaire limitée (benzylpénicilline) ou large (pénéthacilline)
Pénicillines A	- Ampicilline - Amoxicilline	Gram+ (strepto et staphylo à pénicillinase-) Gram- (E Coli)	Bactéricide	Extracellulaire large
Pénicillines M	- Cloxacilline - Oxacilline - Nafcilline	Gram+ (staphylo à pénicillinases + et strepto)	Bactéricide	Extracellulaire limitée
Céphalosporines	- Céfalexine - Céfazoline - Céfapirine - Cefalonium	Gram+ Gram-	Bactéricide	Extracellulaire variable

Synthèse bibliographique

	- Céfopérazone - Celfquinome			
Aminosides	- Néomycine - Framycétine - Gentamycine - Streptomycine	Gram+ staphylocoques, pas d'activité sur les streptocoques) Gram-	Bactéricide	Extracellulaire faible
Polypeptides	- Bacitracine - Colistine	Gram+ (bacitracine) Gram- (Colistine)	Bactéricide	Extracellulaire faible
Macrolides et apparentés	- Spiramycine - Tylosine - Erythromycine - Novobiocine - Lincomycine - Rifaximine	Gram+ (surtout staphylocoques)	Bactéricide Bactériostatique	Intracellulaire large
Tétracyclines	- Tetracycline Oxytetracycline	Gram+ Gram-	Bactériostatique	Large
Quinolone	- Fluméquine Marbofloxacin - Enrofloxacin - Danofloxacin	Gram+ (staphylocoques) Gram-	Bactéricide	Large
Sulfamides		Gram+ Gram-	Bactériostatique	Large
Sulfamides et triméthoprime		Gram+ Gram-	Bactéricide	Intracellulaire large

4.6. Résistance bactérienne aux antibiotiques

La plupart des germes impliqués dans les mammites demeurent sensibles à la majorité des antibiotiques employés. Cette observation relativise l'importance d'un recours systématique à un antibiogramme par le praticien. Le cas échéant, l'interprétation d'un antibiogramme par le praticien doit rester prudente. En effet l'antibiogramme a une faible valeur prédictive quant à son efficacité in vivo. Il sera utilisé pour écarter une ou des molécules envisagées, identifiées comme peu ou non actives sur le germe isolé. Il est également dangereux d'extrapoler le résultat à l'ensemble des infections dues à la même espèce bactérienne dans un troupeau **Faroult et Seryes,(2005)**.

4.7. Définition de l'antibiorésistance bactérienne

Après la découverte de la pénicilline en 1928, on croyait que le problème des infections bactériennes était résolu. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces

molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques.

La « résistance à un antibiotique » est une propriété d'une bactérie qui lui confère une capacité pour inactiver ou exclure l'antibiotique, ou un mécanisme qui bloque les effets bactéricides ou bactériostatiques des antibiotiques. En d'autre terme, c'est un caractère phénotypique et/ou génotypique caractérisant la capacité d'une bactérie à survivre (et à se multiplier), en présence de cet antibiotique, à une concentration qui est habituellement bactéricide ou bactériostatique. **Hamames, M., (2012).**

L'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 K., (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. **Chaalal, W., (2013).**

La quantité d'antibiotiques consommée dans le monde a augmenté de façon considérable ces dernières années et leur utilisation s'est complètement banalisée. Aujourd'hui, ils sont utilisés de manière anarchique. Ainsi, outre la médecine humaine et vétérinaire, on utilise les antibiotiques comme facteurs de croissance dans les élevages, en biotechnologie dans les organismes génétiquement modifiés et dans plusieurs autres secteurs. Cette surconsommation, tous secteurs confondus, favorise le développement rapide d'un phénomène global, celui de la résistance bactérienne aux antibiotiques, associé la transmission de résidus d'antibiotiques et de gènes bactériens résistants à l'homme par la chaîne alimentaire. Le risque du à la présence de résidus d'antibiotiques dans l'alimentation existe, le transfert de bactéries pathogènes résistantes à l'homme est possible mais il est difficile de les mettre en évidence, de les quantifier et d'en mesurer les conséquences. La résistance bactérienne reste aujourd'hui très préoccupante du fait de son ampleur et des conséquences qu'elle peut avoir sur le traitement des infections chez l'Homme et les animaux. **Bensouda, K., (2012).**

4.8. Types de résistance

Selon leur origine, on distingue deux types de résistance bactérienne aux antibiotiques.

4.8.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque constitue un critère d'identification bactérienne, **Lavigne, J-P., (2007)** c'est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes. **Lozniewski, A., Nancy., Rabaud, C., (2010).**

4.8.2. Résistance acquise

En opposé à la résistance naturelle, propriété d'espèce ou de genre, la résistance acquise qui est une propriété de souche. Cette dernière correspond à la capacité de supporter une concentration d'antibiotique beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce. **Mendaci, A., Mihoubi, S., (2015)**

La résistance peut être acquise de manière endogène par mutation ou de manière exogène les β -lactamase sont des enzymes d'inactivation de type sérine (classes A, C et D) ou métallo enzymes (classe B) dont les substrats sont des β -lactames, constituant la principale et la plus importante famille d'antibiotiques, pouvant être classée en sous-groupes selon la structure du noyau de base (pénème, oxapénème, pénème, céphème, oxacéphème, azétididone).

Les BLSE ; Bêta-lactamase de classe A (Ambler), Résistance à l'ensemble des bêtalactames à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes ; Le plus souvent d'origine plasmidique ; Différents types (plus de 200 BLSE décrites): TEM, SHV, CTX-.

Le *Staphylococcus aureus* est un pathogène redoutable qui a su développer des résistances à chaque nouvel antibiotique introduit depuis un demi-siècle. La plasticité de son génome lui confère la capacité de s'adapter à toutes les conditions environnementales, et notamment d'acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques et de développer des mécanismes de régulation pour s'adapter à des concentrations croissantes d'antibiotiques. médecine/sciences Une souche de Staphylocoque est dite résistante à la méticilline 'lorsqu' elle présente une résistance à la pénicilline du groupe M elle est principalement due à la présence du gène mecA **Hiramatsu et al (2002).**

Chapitre II

Matériels et méthodes

1. Prélèvement

Le prélèvement est Constitué de 94 échantillons de lait de vache ; récolte de deux élevages situé dans la wilaya de Laghouat, une ferme situe à un endroit appelé Dakhla la deuxième ferme au niveau de la commune de Bennacer Benchohra, Les fermes utilisent des techniques modernes de production. La race n'était pas un critère discriminatoire. Les seules conditions de sélection étaient l'absence de mammites clinique.les échantillons sont acheminés au laboratoire dans des conditions de froids.

2. Réalisation du prélèvement

Le prélèvement de lait est réalisé, après un nettoyage à l'eau ordinaire, puis à l'eau javellisée et séchage des mains du trayeur et de la mamelle de l'animal au moyen des papiers à usage unique. Ensuite, les prélèvements ont été réalisés dans des tubes stériles de 10 ml .

Les analyses ont été réalisées au laboratoire vétérinaire régional de Laghouat service de bactériologie.

3. Matériel

Le matériel de laboratoire est constitué du matériel courant de laboratoire de bactériologie à savoir le matériel de stérilisation (autoclave), le matériel d'incubation (étuve), des milieux d'isolement et d'identification des différentes bactéries impliquées dans les mammites, des boîtes de Pétri, des tubes , des kits d'identification, et des disques d' antibiotiques pour antibiogramme.

4. Analyses bactériologiques

4.1. Isolement

Les échantillons de lait, ramenés à température ambiante par dépôt des tubes sur la paille. Chaque échantillon est doublement ensemencé sur de la gélose au sang. L'une des boîtes est mise en étuve en aérobiose, l'autre en anaérobiose relatif aux streptocoques. Après 18 à 24 heures à 37 C°, Les deux lots de boîtes de Pétri sont sorties des étuves, ouvertes et examinées sous la flamme d'un bec Bunsen, sont ensuite repiquées sur gélose ordinaire, la gélose nutritive de façon à obtenir une culture pure. Ces boites ont été ensuite incubées à l'étuve pendant 24 heures.

4.2. Identification des germes

Après l'observation macroscopique, une première orientation a été réalisée par la coloration de Gram.

4.2.1. Coloration de Gram

C'est la coloration de base en bactériologie et permet de rechercher l'affinité tinctoriale des bactéries leurs morphologies et leurs modes de regroupement. Elle permet une classification des bactéries selon leur structure.

Technique

- Réaliser sur une lame propre un frottis puis le fixer.
- Recouvrir la lame de violet de gentiane phénique pendant 1 minute puis rincer.
- Recouvrir la lame d'une solution de Lugol durant 1 minute.
- Laver la lame à l'éthanol pendant 30 secondes jusqu'à ce que la dernière goutte soit transparente.
- Laver rapidement à l'eau et recouvrir la lame de Fuchsine phénique pendant 1 minute puis rincer à l'eau distillée, ensuite, sécher la lame à l'aide d'un papier buvard.

L'observation s'effectue à immersion (objectif $\times 100$) après avoir déposé une goutte d'huile à immersion sur la lame.

Lecture

Les bactéries Gram positif sont colorées en violet alors que celles colorées en rose sont Gram négatif.

Des tests ont été ensuite réalisés (catalase pour les coques Gram positif et oxydase pour les bacilles Gram négatif). L'identification a été poursuivie par l'ensemencement sur milieu sélectif.

4.2.2. Identification des staphylocoques :

Les staphylocoques apparaissent ainsi comme des coques, à gram positif, catalase positif et culture sur Chapman (Chapman +) milieu sélectif des staphylocoques. Après ces premiers indices, d'autres caractéristiques sont recherchées à savoir l'utilisation du mannitol, la coagulase libre.

Test catalase

La catalase est une enzyme qui permet à la bactérie de dégrader l' H_2O_2 toxique par la réaction suivante : $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$

Les staphylocoques (catalase positive) et les streptocoques (catalase négative) peuvent être différenciés par ce test. Les germes producteurs de catalase peuvent dissocier le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau (**Hart et Shears, (1999)**).

Technique

- Déposer sur une lame une goutte d' H_2O_2 .
- prélever une colonie isolée à partir de gélose avec une pipette pasteur et la mettre en contact avec la goutte de H_2O_2 , le résultat positif se traduit par la formation immédiate de bulles gazeuses.

Test Coagulase

Ce test permet la recherche de la coagulase, exo enzyme capable *in vitro* de coaguler le plasma de lapin. Parmi les Cocci Gram positif, catalase positif, seules les souches de *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma de lapin.

La détection de la coagulase a été effectuée en mettant 0.5 ml de plasma Lapin avec 0.5 ml de la suspension bactérienne à étudier dans un tube à hémolyse. On mélange bien le plasma avec l'inoculum puis on incube les tubes à 37°C; la prise en masse du mélange est réalisée en 3 à 6 heures ou parfois en 24 heures. **BioRad(2013)** La présence de coagulase est considérée comme un critère d'identification de *S. aureus*.

4.2.3. Identification des entérobactéries et Pseudomonas

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif l'identification a été réalisée par les galeries d'identification biochimiques. Le système API Bio Mérieux est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries.

Une galerie API (Appareil et Procédés d'Identification) est un ensemble de petits puits et cupules prêts à l'emploi permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques (tableau05 annexe2).

La galerie API 20 E est destinée à l'identification des entérobactéries et autres bacilles Gram négatif, elle se présente sous la forme d'une bandelette comportant 20

Matériels et Méthodes

micro-tubes contenant des substrats déshydratés (urée, L-arginine, gélatine, inositol, etc.). Au-dessous de Chaque tube, un sigle indique la nature du test. **Bio-Mérieux, (2009).**

Les tubes sontensemencés avec une suspension bactérienne, pure effectuée en eau Physiologique. Les différents tests réalisés sont: - ONPG (recherche de bêta-galactosidase).-L'arginine-dihydrolase.-Lysine-décarboxylase.-L'ornithine-décarboxylase.- Utilisation du citrate.- Production du H₂S. - Uréase.- Tryptophane désaminase.- Production d'indole.- La réaction de Voges-Proskauer (Production d'acétoïne).- Gélatinase.- Fermentation / oxydation de Glucose, Mannitol, Inositol, Sorbitol, Rhamanose, Saccharose, Melibiose, Amygdaline et l'Arabinose.

La préparation de la galerie se déroule selon les étapes suivantes :

Préparation de l'inoculum

On prélève à l'aide d'une pipette ou une anse une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé puis on la met dans un 9 ml d'eau physiologique pour obtenir une suspension bactérienne opacité équivalente à 0,5 MF ou a une D.O. de 0,08 a 0,10 lue a 625 nm

Inoculation de la galerie

Pour les tests : CIT, VP et GEL, on remplit tubes et Cupules avec la suspension bactérienne en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement. Pour les autres tests on remplit uniquement les tubes et non les cupules. Dans les tests ; ADH, LDC, ODC, UREE, H₂S on remplit les cupules avec l'huile de paraffine pour créer une anaérobiose.

Après la préparation de la galerie il faut répartir environ 5 ml d'eau physiologiques dans les alvéoles afin de créer une atmosphère humide puis réunir le fond et couvercle. Un fond et un couvercle complètent la galerie et permettent de constituer une boîte d'incubation. Un délai de 18 à 24h est nécessaire pour pouvoir observer les réactions entre bactéries et substrats.

Test oxydase

Test de détection de l'enzyme cytochrome oxydase chez les bactéries Gram négative qui produisent cette enzyme, telles que Pseudomonas. A l'aide de pinces placer un disque d'oxydase sur une lame porte objet. Choisir une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester Frotter doucement la colonie sur le disque.

Lecture : Réaction positive : coloration bleu foncé à violet apparaissant dans un délai de 30 secondes. Réaction négative : absence de coloration ou coloration au-delà de 30 secondes.

5. Antibiogramme par diffusion des disques

Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité aux antibiotiques. opératoire est pratiqué selon la standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. Les antibiotiques testés selon la liste de standardisation de l'antibiogramme 6^{ème} édition tableau 07,08, et 09 annexe 03.

Milieu pour antibiogramme

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

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.
- La suspension bactérienne à 0,5 MF doit être diluée au 1/10^{ème} dans le cas où l'on teste des molécules à charge SFM (c'est-à-dire des antibiotiques pour lesquels il n'existe pas encore de critères d'interprétation dans la technique CLSI).

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.

Application des disques d'antibiotiques

Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm.

Matériels et Méthodes

_ Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application. La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée, figure dans les tableaux annexes 04

Conditions d'incubation

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

Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse
- les mesures seront prises soigneusement en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée. Classer la bactérie dans l'une des catégories Sensible, Résistant ou Intermédiaire. Les mesures de diamètres d'inhibition sont comparées aux valeurs critiques tableaux11 Annexe 03.

6. Test complémentaire obligatoire

6.1- Recherche de la résistance de *Staphylococcus spp*, à l'Oxacilline

Pour *S. aureus*, le disque de cefoxitine est comparable à celui de l'Oxacilline pour détecter la résistance à l'Oxacilline par production de PLP2a (gène *mecA*) ; cependant, le disque de cefoxitine est plus facile à lire et donc c'est la méthode préférée.

En pratique, pour une meilleure détection de la résistance, les disques d'Oxacilline (1µg) et de cefoxitine (30µg) doivent être testés simultanément au niveau de l'antibiogramme Standard de *S. aureus*.

Tableau 2 : Recherche de la résistance à l'Oxacilline et interprétation des tests (méthode de diffusion des disques) Standardisation de l'antibiogramme 6eme édition(2011)

	Oxacilline (1µg)	Cefoxitine (30µg)	interprétation
S. aureus	≥13mm	≥22mm	Souche OXA S
	≤12mm	≤21mm	Souche OXA R
S. lugdunensis	-	≥22mm	Souche OXA S
	-	≤21mm	Souche OXA R
Autres SCN	-	≥25mm	Souche OXA S
	-	≤24mm	Souche OXA R

6.2. Recherche de la beta lactamase chez les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*

6.2.1. Définition d'une BLSE

Les BLSE désignent des enzymes « H-lactamases » produites par les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp*, entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de 3ème génération (C3G) (céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et des monobactames (aztréonam), mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines :(céfoxitine, moxalactam) ni des carbapénèmes (imipénème). Selon les recommandations du CLSI (M100-S21), la recherche de la BLSE pour l'interprétation de la sensibilité des entérobactéries, *Pseudomonas spp*.

On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes :

- _ Céfotaxime (CTX a 27mm), Ceftazidime (CAZ a22mm), Ceftriaxone (CRO a 25mm),
- _ Aztréonam (ATM a 27mm).

6.2.2. Méthodes de détection de la BLSE

6.2.2. 1.Test de synergie

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de H-lactamase (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam)

Standardisation de l'antibiogramme 6eme édition(2011)

Entérobactéries :

Technique

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline+acide clavulanique (AMC 20/10µg) a 30mm centre a centre d'un disque de C3G (Cefotaxime : CTX 30µg). Incuber 18H a 35°C. Cette technique permet la mise en évidence des TEM et SHV.

Lecture

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques :

- AMC et CTX - AMC et CAZ - AMC et ATM.

Absence de synergie : En l'absence d'une image de synergie, la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques de C3G.

Pseudomonas aeruginosa

La détection est plus difficile en raison d'association avec d'autres mécanismes de résistance tels hyperproduction de cephalosporinase.

Technique

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline+acide clavulanique (TCC 75/10µg) a 30mm (centre a centre) d'un disque de C3G : ceftazidime (CAZ 30µg), aeternam (ATM 30 µg),

Incubation

Incuber 18 H a 35 °C

Lecture

Le test est positif s'il y a apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques :- TCC et CAZ - TCC et ATM

S'il y a absence de synergie, on peut rechercher la BLSE par :

Le rapprochement des disques TCC et CAZ (15mm et 20mm centre a centre) au lieu de 30mm.

Un résultat positif est basé sur l'inhibition des BLSE par l'acide clavulanique, et par conséquent l'augmentation de l'activité des céphalosporines de troisième et quatrième génération en présence d'acide clavulanique.

6.2.2.2. Test de confirmation ou technique du double disque

Ce test devra être fait systématiquement devant :

- _ L'absence de synergie avec diminution des diamètres des C3G
- _ La présence d'une résistance aux molécules suivantes : ampicilline, ticarcilline, Céfazoline avec un diamètre <6mm, par contre l'AMC présente un diamètre d'inhibition.

Ce test se fait dans la condition standard de l'antibiogramme.

Appliquer les disques d'antibiotiques :

- Pour les entérobactéries :

Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX ou CRO) a une distance de 30mm (centre à centre).

- Pour *P.aeruginosa* :

Déposer un disque de TCC avec un disque de C3G (CAZ) ou monobactames (ATM) a une distance de 25mm. Certains auteurs signalent une meilleure détection des BLSE en testant un disque de cefoperazone (75µg) avec un disque de TCC (75/10 µg).

Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure à la température ambiante (sur la paillasse), la boîte sera déposée couvercle vers le haut.

_ Après 1H d'incubation, ôter le disque d'AMC (ou de TCC) et le remplacer par un disque de CTX (ou CAZ).

_ Incuber la boîte 18 H a 35°C

Lecture et interprétation

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est ≥ 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.

7. Contrôle de qualité

Le Contrôle de qualité a pour but de vérifier :

La précision et la fiabilité de la technique des tests de sensibilité, la performance des disques d'antibiotiques utilisés dans le test.

Les souches de référence utilisées :

Escherichia coli 25922 ; *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Staphylococcus aureus* 25923.

Les mesures de diamètres d'inhibition sont soigneusement prises, et comparées aux valeurs critiques tableaux 11 Annexe 4.

Chapitre III

Résultats et discussion

1- Isolats de mammites subcliniques

Les résultats de l'analyse bactériologique de 94 échantillons de lait récoltés, ont révélé que, 24 échantillons ont été positifs tableau03. Par ailleurs, 74.46% des prélèvements ont été trouvés indemnes, Les agents pathogènes principaux de mammites subcliniques sont les staphylocoques avec un taux de 17%. Tableau 04. Les mammites sont la seconde forme clinique des infections à *S. aureus* rencontrée notamment chez les animaux d'élevage **Sérieys F(2006).**

Les staphylocoques coagulase négatif ont représenté 8.5 % des bactéries isolées, Ce sont les agents étiologiques les plus fréquemment rencontrés dans le cas de mammite subcliniques Ces germes ont longtemps été considérés comme des agents pathogènes rarement responsables de ce type d'infection .mais les recherches réalisées au cours des dernières années font apparaître l'importance des staphylocoques coagulase négatif comme germes pathogènes responsables de mammites cliniques et subcliniques.

Tableau 03 : Pourcentage d'infection

Nombre d'échantillons	94
Nombre d'échantillons positifs	24
Pourcentage d'infection	25.53%

Tableau 04: Fréquence des germes isolés

Germes isolés	Fréquence des germes isolés
staphylocoques	17.02%
Entérobactéries	7.45%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.06%

Parmi les agents pathogènes majeurs, *S. aureus* probablement en relation avec des déficiences en matière d'hygiène. Il a été isolé avec une fréquence de 8.5% Elles se caractérisent fréquemment par des formes subcliniques et chroniques.

Les entérobactéries sont considérées comme des germes de l'environnement ; ils sont isolés avec une fréquence de 7.45 %. Tableau04.

Résultats et discussion

Deux souches d'*Escherichia coli* isolées qui représente 2.12%, Les klebsielles, et *serratia odoriferra* avec une prévalence respectivement 3.20 % 2.12% .figure 01.

D'après les résultats de L'identification des isolats par la galerie APIE20 tableau annexel deux souches de *Klebsiella ornitinolytica* et une souche de *Klebsiella pneumoniae*.

Une seule souche de *Pseudomonas aeruginosa* isolée avec une fréquence de 1.06%.

Il faut signaler l'absence des streptocoques.

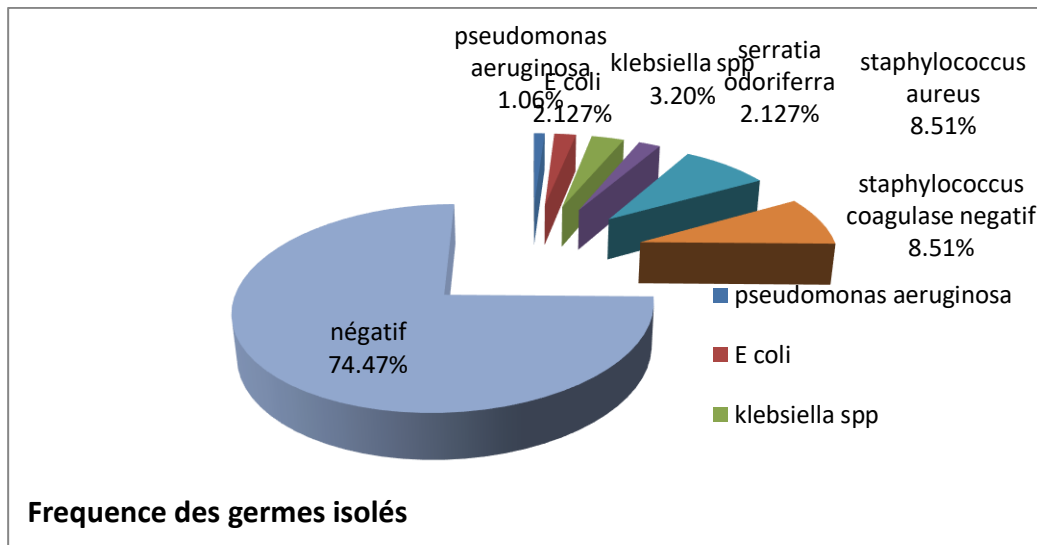


Figure 01 : fréquence des germes isolés.

2. Résultats de l'antibiogramme

Les isolats de lait identifiés ont subi un antibiogramme afin de déterminer la sensibilité et résistance des isolats aux antibiotiques.

La lecture de l'antibiogramme est faite en mesurant les diamètres d'inhibition en millimètre à l'aide d'un pied à coulisse. Pour chaque antibiotique, le diamètre lu est comparé aux diamètres critiques diamètre maximal et (diamètre minimale pour déterminer si la bactérie est sensible ou résistante à l'antibiotique.

2.1. Résistance aux antibiotiques des isolats de staphylocoques

Dans cette étude, les souches de *Staphylococcus aureus* ont montré une sensibilité élevée 100% à tous les antibiotiques à l'exception de la tétracycline le taux de sensibilité est de 75% figure 02 on peut dire que tous les isolats de *Staphylococcus aureus* sont sensibles aux beta lactames puisque qu'ils sont sensibles à la pénicilline, et à l'oxacilline.

Résultats et discussion

On signale 100% de sensibilité à la vacomycine, une souche résistante aux glycopeptides, doit être confirmée par la CMI.

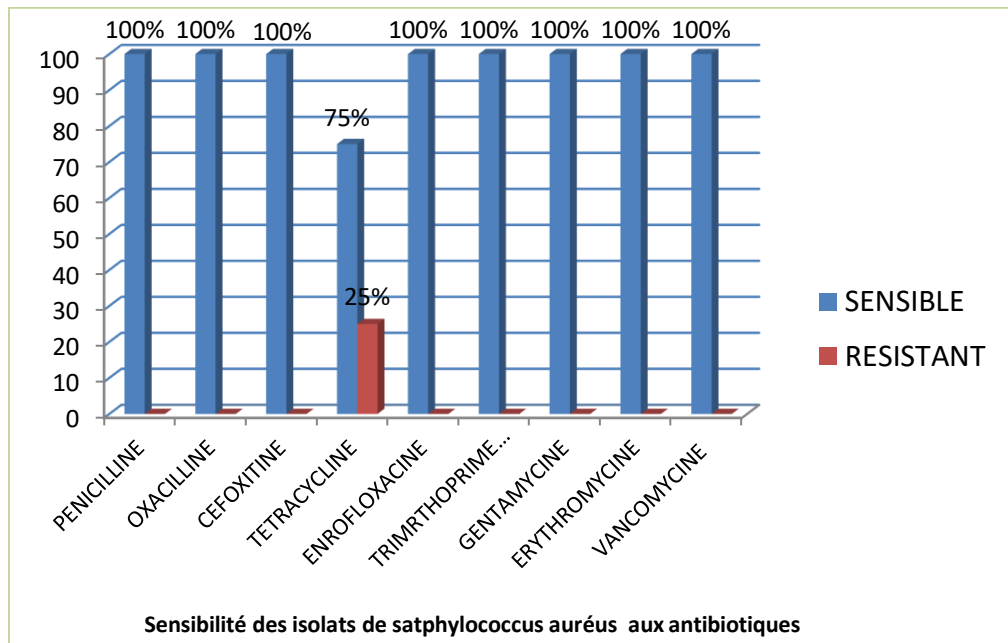


Figure 02 : Sensibilités des isolats de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

Concernant les staphylocoques à coagulase négatif deux souches résistante aux isoxazolyl pénicillines (Oxacilline) le diamètre est inférieur à 6 figure03 confirmé par le test aux cefoxitine, le diamètre de la cefoxitine ≤ 24 mm, la souche est dite résistante à l'Oxacilline (**standardisation de l'antibiogramme 6 édition**).

La résistance de *Staphylococcus* aux pénicillines est due principalement à la production d'une betalactamase qui hydrolyse les pénicillines G et A mais est sans effet sur la pénicilline M et les céphalosporines **Sérieys F(2006)**.

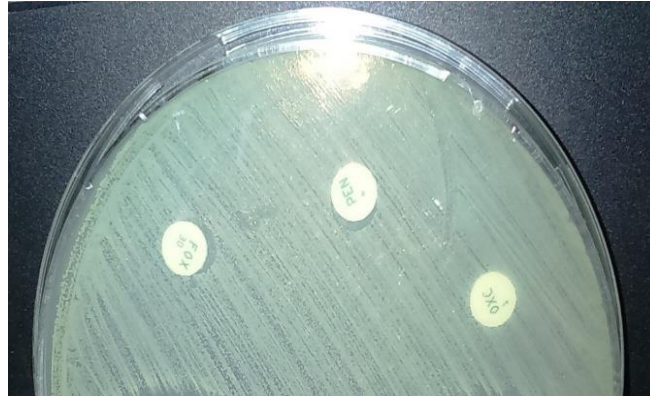


Figure 03: isolat de Staphylococcus coagulase négatif résistante aux isoxazolyl pénicillines

Les résultats montrent un taux de résistance de 50% à la tétracycline, 12.5% à l'érythromycine, figure 04, ceci correspond à une souche résistante aux isoxazolyl pénicillines et résistant à la tétracycline, la deuxième souche résistante aux isoxazolyl pénicillines est résistante à la tétracycline et l'érythromycine.

Les antibiotiques suivant la vacomycine, l'Enrofloxacin, gentamycine, trimetoprime sulfaméthoxazol, Ont une très bonne activité sur les isolats de staphylocoques coagulase négatif.

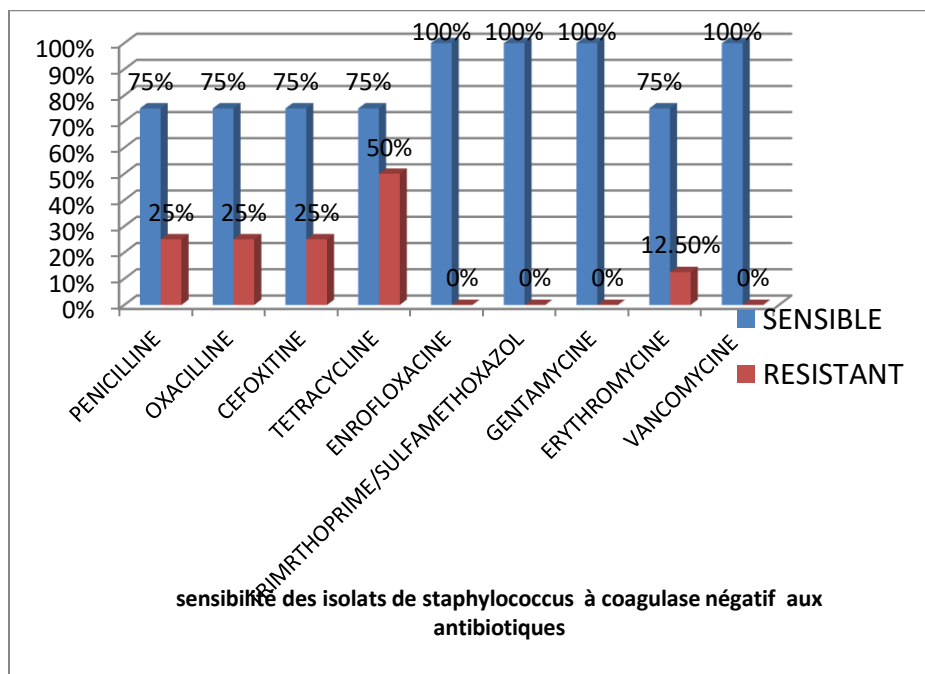


Figure 04: Sensibilités des isolats de Staphylococcus coagulase négatif aux antibiotiques.

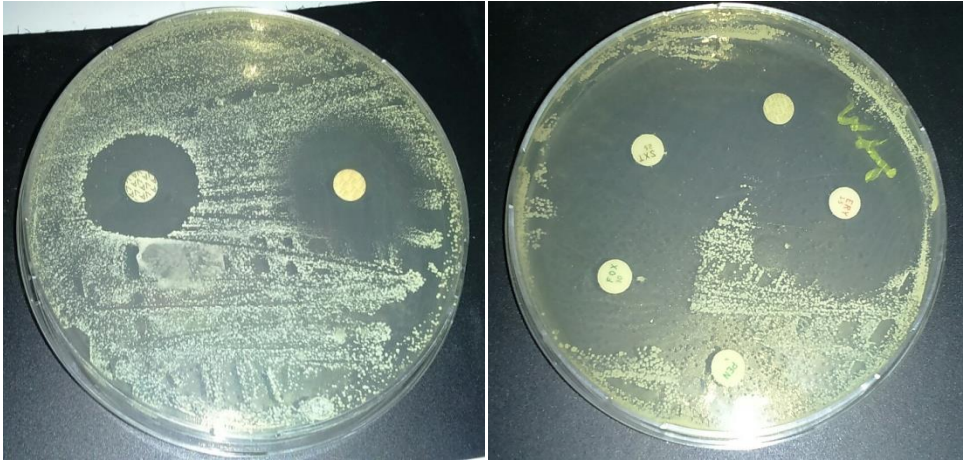


Figure05 : antibiogramme d'un isolat de Staphylococcus coagulase négatif sensible aux antibiotiques

2.2. Résistance aux antibiotiques des isolats d'entérobactéries

L'étude de l'antibiorésistance aux antibiotiques des isolats des entérobactéries nous a permis de constater que toutes les souches isolées sont résistantes à deux ou plusieurs antibiotiques, dont certains sont des résistances naturelles,

Les trois souches des Klebsielles isolées sont sensibles aux antibiotiques suivants : l'enrofloxacin, triméthoprim + sulfaméthoxazole, colistine et la tétracycline.

Elles ont présenté une résistance à l'ampicilline et aux céphalosporines suivants : ceftiofur et cefalotine,

Les klebsielles ont une résistance naturelle à l'ampicilline. Elles sont normalement sensibles aux céphalosporines **J.L.Avril bactériologie (2007)**. L'antibiogramme montre une synergie entre le ceftiofur et l'amoxicilline + l'acide clavulanique, les trois souches de klebsielles sont donc productrices de bêta-lactamase. En cas de test de synergie positif : rendre céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, céfépime, céfpirome, céfixime et aztréonam : intermédiaire ou résistant. **Memobio.fr**.

Les deux isolats de *Serratia odorifera* sont sensibles à l'enrofloxacin, colistine et triméthoprim + sulfaméthoxazole : ceftiofur, et résistantes aux antibiotiques suivants : l'ampicilline et amoxicilline + acide clavulanique, cefalotine les deux souches ne sont pas productrices d'une BLSE, pas de synergie entre l'AMC et le disque de céphalosporine de troisième génération (ceftiofur).

Les deux souches de *E. coli* isolées sont sensibles aux antibiotiques testés : amoxicilline + acide clavulanique, ampicilline, ceftiofur, cefalotine, l'enrofloxacin,

Résultats et discussion

triméthoprime +, sulfaméthoxazol fluméquine, on note une résistance à la tétracycline, l'antibiogramme révèle une absence de synergie entre l'AMC et le ceftiofur (céphalosporine de 3^{ème} génération).

2.3. Résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*

Une seule souche de *Pseudomonas aeruginosa* isolée, résistante aux antibiotiques Ceftazidime ; l'amoxicilline+ acide clavulanique. Sensible à la colistine, à l'enrofloxacin, et à la gentamycine. La figure 06 montre une synergie entre le Ticarcilline+acide clavulanique TCC et aztreonam ATM la souche caractéristique en bouchon de champagne. *Pseudomonas aeruginosa* est productrice d'une bêta-lactamase.

Pseudomonas aeruginosa présente naturellement une céphalosporinase, une oxacillinase, il est donc naturellement résistant aux aminopénicillines +/- AC. Clavulanique, aux céphalosporines de 1^{ère} et de 2^{ème} génération, à la ceftriaxone, à la céfotaxime et à l'ertapénème. **Memobio.fr.**

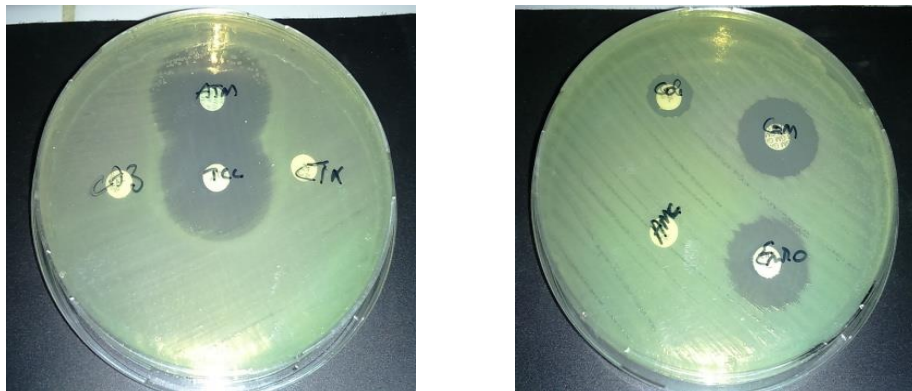


Figure 06 : Antibiogramme d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* productrice de BLSE.

Conclusion

Conclusion

Le présent travail a permis d'évaluer la prévalence des mammites subcliniques au niveau de deux élevages modernes au niveau de la région de la Laghouat qui demeurent parmi les pathologies dominantes sévissant dans les élevages laitiers.

Globalement le profil bactériologique des isolats est marqué par une prédominance des staphylocoques, La fréquence de résistance aux antibiotiques est légère.

Pour les isolats des entérobactéries, on signale une résistance naturelle aux beta lactames et la présence de BLSE chez quelques isolats des entérobactéries ,une seule souche de *Pseudomonas aeruginosa* productrice d'une betalactamase a été isolé .

La maîtrise des mammites subcliniques devrait impliquer un dépistage systématique ; responsables de ces infections, une utilisation raisonnée des anti-infectieux, et l'identification des agents pathogènes.

Une étude portant sur un plus grand nombre d'exploitations est suggérée pour confirmer les résultats présentés ainsi qu'une caractérisation plus poussée des germes isolés en recherchant leurs éventuelles antibiorésistance.

L'utilisation des antibiotiques sans passage par l'étape systématique de l'antibiogramme permet une acquisition de résistance des germes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Blowey RW, Edmondson, P.**(2010). Mastitis control in dairy herds. Seconde, édition. Cabi, Wallingford, United Kingdom. 272 p.
2. **Bio-Mérieux**, (2009). Catalogue Analytique API 20 E. Système d'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux (Réf. 20100/20160). biomérieux
3. **Bensouda, K.**, (2012). Rapport entre l'alimentation et la résistance bactérienne aux antibiotiques. Thèse pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie université Mohamed V Faculté de médecine et de pharmacie. Ra.
4. **Bidaud O, Houffschmitt P, Viguerie Y.** (2010) Etiologie des mammites bovines en France entre 2005 et 2007. *Intervet*,
5. **Bouaziz O, Aïmeur R, Kabouia R, Bererhi EH, Smati F.** (2000). Enquête sur les mammites bovines dans la région de Constantine – Résultats préliminaires. 4ème Séminaire International de Médecine Vétérinaire Constantine p 21-22.
6. **Benmounah B.** (2002). Prévalence étiologique des mammites subcliniques dans la Wilaya de Constantine. Thèse de Magister, Université Mentouri Constantine : p94 .
7. **Bosquet et al.**, (2013). Référentiel Vétérinaire 2013 pour le traitement des mammites bovines. . SNGTV, Paris, France. p 100.
8. **Chaalal, W.**, (2013). Occurrence et profil d'antibiorésistance des Staphylococcus aureus isolés de produits alimentaires. Mémoire en vue de l'Obtention du Diplôme de Magister. Université d'Es-Senia Oran Faculté des Sciences Laboratoire de Microbiologie Appliquée.
9. **Faroult B., Seryes F.**,(2005) , Antibiothérapie des mammites bovines. Bulletin des GTV Hors série médicaments, 208-214, p 64-70.
10. **Faye K.** (2005). Le point sur l'usage vétérinaire des antibiotiques: impact sur l'antibiorésistance des bactéries en santé animale et humaine. Masson, Paris. p22
11. **Gogny puty. JD Pellerium. J.L**(2001) classification des principes actifs l'arsenal thérapeutique vétérinaire p 165-168.

Références bibliographiques

12. **Hanzen Ch.**, (2006) Pathologie infectieuse de la glande mammaire, symptômes, étiologies et traitement, cours de la faculté de médecine vétérinaire de Liège, chapitre trois.
13. **Hamames, M.**, (2012). Thèse de Magistère. Etude in vitro de l'effet antibactérien des associations d'antibiotiques : cas des bactéries isolées de Sebket Ouled M'barek (El-Mahmel, wilaya de Khenchela).. Université de Khenchela
14. **Hart et Shears**, (1999).Atlas de microbiologie.
15. **Hihamatsu k Katymaya yazawaH** moleculargenetics of methicilline résistants Staphylococcus aureus ,int microbiol p 292
16. **J.L.Avril** (2007). Bactériologie clinique 2 édition p55
17. **Lavigne, J-P.**, (2007). Effets des antibiotiques et Mécanisme de résistance. Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes, France p64
18. **Lozniewski, A., Nancy, Rabaud, C.**, (2010). Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins. Resistance bactérienne aux antibiotiques
19. **Mendaci, A., Mihoubi, S.**, (2015). Mémoire de Master en Microbiologie. Profil de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries uropathogènes (Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae. Université des Frères Mentouri Constantine.p
20. **Mahdi,F. Merah, W.**,(2015). Mémoire de Master en Microbiologie.Antibioresistance des bactéries fécales présentes dans les eaux d'Oued BAGHAI (Wilaya de Khenchela). Université Abbes Laghrour KhenchlaE .Algérie.
21. **Médecine/sciences** (Novembre 2010) Volume 26 / No 11 .
22. **NIELEN.**,(1992) Influence du stade de lactation sur le nombre de cellules /ml (les premiers jets des quartiers non infectés) journal of Dairy science p 75,606-614.
23. **Niar A, Ghazy K, Dahache SY.**(2000) Incidence des mammites sur les différents élevages bovins de la wilaya de Tiaret. *4ème Séminaire International de Médecine Vétérinaire* Constantine p 21-22.

Références bibliographiques

24. **Heleili N.** (2002). Etude de la mammite subcliniques et la sensibilité in vitro des germes isolés aux antibiotiques. Thèse de Magister, Université de Batna , p 202.
25. **Remy D.**(2010) Les mammites. France Agricole Editions, Paris, France. P261, 262.
26. **Sandholm M., Louhi M.**, (1991) Bovine mastitis: why does antibiotic therapy fail? Mammites des vaches laitières. Société française de buiatrie, Paris 18 et 19 p98-106.
27. **Sérieys F , (2006)**Antibiorésistance acquise des infections mammaires. In Bulletin GTV p, 33,36-38).
28. **Serieys et Seegers,**(2002) L'intervention du vétérinaire face à un problème de mammites.
29. **Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale** (2011) (médecine humaine et vétérinaire) 6eme édition p41, 52.53 .184, 191.
30. **Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale**(2008). (Médecine humaine et vétérinaire) 4 eme édition p18, 19.
31. **Vestweber., Leipold H W.,** (1993)staphylococcus aureus mastitis. Part 1.virulence, defense mechanisms and establishment of infection. Compendium Continuing Education, Food animal, p 15, 11, 15, 61.

Site internet

1. [http://www Biorad](http://www.Biorad).
2. [http://www Memobio.fr](http://www.Memobio.fr).

Annexes

ANNEXE 01

Composition des Milieux de cultures

Gélose nutritive

La gélose nutritive permet la culture des germes non exigent

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée. Ph final à 25°C : 7,5

Extrait de viande : 1.0g Eau distillée : 1000g

Agar agar : 13g Extrait de levure : 2.0g

PH final : 7.2-7.4

Gélose Hektoen

La gélose Hektoen est un milieu sélectif différentiel des bactéries entérobactéries La composition du milieu permet la différenciation des colonies fermentant rapidement un des 3 sucres (virage du bleu au rouge saumon) et/ou produisant de l'H₂S (centre noir).

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée. Ph final à 25°C : 7,5

Peptone 12,00 Chlorure de sodium..... 5,00

Extrait de levure..... 3,00 Thiosulfate de sodium..... 5,00

Sels biliaries N° 3..... 9,00 Citrate ferrique ammoniacal..... ..1,50

Lactose..... 12,00 Bleu de bromothymol..... 0,065

Saccharose..... 12,00 Fuchsine acide..... 0,10

Salicine..... 2,00 Agar..... 14,00

Gélose Chapman

Le milieu de Chapman est utilise pour l'isolement des Staphylocoques qui donnent des colonies jaunes par fermentation du mannitol et virage du rouge de phénol. Sa forte teneur en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des autres espèces.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée. PH final à 25°C : 7,4 ±0,2

-Peptones.....10,00 g

-Extrait de viande de bœuf..... 1,00 g

-D-mannitol10,00 g

-Chlorure de sodium..... 75,00 g

-Rouge de phénol	0,025 g
-Agar.....	15,00 g

Gélose Mueller Hinton

La gélose Mueller-Hinton est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques. Sa formulation est conforme aux recommandations du de l'O.M.S.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Infusion de bœuf.....	30,00 g
Peptone de caséine.....	17,50 g
Amidon.....	1,50 g
Agar.....	17,00 g

Ph final à 25°C: 7,3 +- 0,2

Le milieu en flacons ou boîtes se conserve entre 2 et 8°C.

Gélose au sang

Extrait de viande :	1.0g
Extrait de levure :	2.0g
Peptone :	5.0g
Chlorure de sodium :.....	5.0g
Agar agar :	13g
Sang de mouton	20ml
Eau distillée :	1000gPH
Ph final:	7.2-7.4

Annexe 02



Figure07 : Galerie API 20E

Lecture de la galerie -Après 18-24 heures à 35-37° C, la lecture de la galerie est réalisée en se référant au tableau de lecture.

Tableau05 : Tableau de lecture de la galerie API 20 E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultat	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenylgalactosidase	β galactosidase	Incolore	jaune
ADH	Arginine	Arginine dehydrolase	Jaune	Rouge /orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge /orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pale/ jaune	Bleu vert/bleu
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/
UREE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA Immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND 2 min max	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP1 + VP2 10 min	
			Incolore	Rose/ rouge

GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	diffusion	Non Diffusion du pigment noir
GLU	D-Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D-Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-Rhamanose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune

Composition des additifs

Kovacs

Le réactif de Kovacs est utilisé pour la mise en évidence De la production d'indole par lesmicro-organismes possédant une tryptophanase. Le tryptophane, acide Aminé notamment présent dans les peptones tryptiques, est dégradé en indole qui réagit avec lePDiméthylaminobenzaldéhyde du réactif. Une réaction positive, de la présence d'indole, est révélée par laColoration au rouge du réactif de Kovacs.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée.

P-Diméthylaminobenzaldéhyde..... 5,00 g

Alcool amylique..... 75,00 ml

Acide chlorhydrique pur..... 25,00 ml

Conserver en flacon ambré entre 2 et 8°C.

Réactif de Voges – Proskauer 1 et 2

Solution réactionnelle pour la mise en évidence de la présence d'acétyl –méthyle carbinol (acétoine dans) le milieu. Ce composé est un produit de dégradation de l'acide pyruvique par les bactéries qui empruntent la voie de fermentation butanediolique caractéristique de certaines Entérobactéries.

VP1 : Soude coustique (NaOH) **VP2** : Alpha naphtol.

Réactif TDA

Solution réactionnelle pour la mise en évidence de la présence, dans le milieu, de l'acide indole-pyruvique formés par les bactéries possédant le tryptophane désaminase.

Composition : Chlorure de fer.....80 g /l

Annexe

Tableau06 : Résultat de l'identification biochimique des bactéries par les galeries API 20E.

ESPECE	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	HES	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	oxydase
E coli	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
Klebsiella pneumoniae	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Klebsiella ornithinolytica	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Serratia odoriferra	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Pseudomonas aeruginosa	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

(+) : Résultat positif, (-) : Résultat négatif; (ONPG) : β -galactosidase ; (ADH) : Arginine-dihydrolase ; (LDC) : Lysine-décarboxylase ; (ODC) : Ornithine-décarboxylase ; (CIT) : Citrate ; (H2S) : Production du sulfure d'hydrogène ; (URE) : Uréase ; (TDA) Tryptophane désaminase; (IND) : Indole ; (VP) : Réaction de Voges-Proskauer ; (GEL) : Gélatine ; (GLU) : D-glucose ; (MAN) : D-mannitol ; (INO) Inositol; (SOR) : D-sorbitol ; (RHA) : L-rhamnose ; (SAC) : D-saccharose ; (AMY) : Amygdaline ; (MEL) : D-melibiose; (ARA) : L arabinose.

Annexe 02

Composition des colorants de gram

Cristal violet ou violet de gentiane

Solution mère A

Cristal Violet ou Violet de Gentiane...25 g Ethanol à 96 %250 ml

Solution mère B

Oxalate d'Ammonium.....5 g Eau Distillée.....500 ml

Fuchsine

Solution saturée de Fuchsine Basique, filtrée.....100ml

Solution aqueuse de Phénol à 5 %.....900ml

Lugol

Iodure de Potassium (KI)2,34 g

Iode en Cristaux ou Iode Sublimée.....1,66 g

Eau Distillée.....500 ml

Annexe

Annexe 03

Tableau07 : Liste des antibiotiques à tester pour Entérobactéries (standardisation de l'antibiogramme 6^{eme} édition(2011))

Boite 90mm	Espèce Aviaire	Espèce Bovine, Ovine, Caprine, Cameline	Espèce Canine, Féline	Espèce Equine	Espèce cunicole
Boite1	Ampicilline	Ampicilline	Ampicilline	Ampicilline	Amoxicilline+Acide clavulanique a
	Amoxicilline+Acide clavulanique a	Amoxicilline+Acide clavulanique	Amoxicilline+Acide clavulanique	Ceftiofur/Céfotaxime	Ceftiofur/Céfotaxime a
	Céftiofur/Cefotaxime a	Céftiofur/Cefotaxime a	Céftiofur/Cefotaxime	Triméthoprim+ulfamethoxazole	Enrofloxacin
	Néomycine	Tétracycline	Triméthoprim+ulfamethoxazole	Tétracycline	Colistine b
	Acide nalidixique	Enrofloxacin	Tétracycline		
	Triméthoprim+ulfamethoxazole	Triméthoprim+ulfamethoxazole			
	Colistine b	Colistine b			
Boite2	Furanes c				
	Tétracycline	Céphalothine			
	chloramphénicol c				
	Norfloxacin				
	Enrofloxacin				
Boite3	Céphalothine				
	Fluméquine	Céfalexine	Ou Amoxicilline		
	Ou Amoxicilline	Fluméquine			Fluméquine
	Acide oxolinique				

Annexe

a : Antibiotique testé pour la recherche de β -lactamase à spectre élargi b : En cas de résistance à la colistine déterminer la CMI par E-test

c : Antibiotiques testés uniquement dans le cadre de l'épidémiologie Boite 3 : Inoculum dilué 1/100, valeurs critiques CA-SFM

Tableau 08 : Liste des antibiotiques à tester pour Staphylococcus SPP a : Si OXA R (et FOX R), la souche est résistante à toutes les β -lactamines. b Antibiotiques testés uniquement dans le cadre de l'épidémiologie. Boite 3 : Inoculum dilué au 1/100, valeurs critiques CA-SFM tableau

Boite 90mm	Espèce Aviaire	Espèce Bovine, Ovine, Caprine, Cameline	Espèce Canine, Féline	Espèce Equine	Espèce cunicole
Boite1	Pénicilline	Pénicilline a	Pénicilline a	Pénicilline a	Pénicilline ab
	Oxacilline a	Oxacilline		Gentamycine b	Oxacilline ab
	Céfoxitine a	Céfoxitine a			Cefoxitine
	Néomycine	Erythromycine			
	Gentamycine b	Triméthoprim+sulfaméthoxazole			
	Enrofloxacin	Enrofloxacin	Enrofloxacin		Enrofloxacin
Boite2	Triméthoprim+sulfaméthoxazole	Tétracycline	Tétracycline		
	Erythromycine	Vancomycine	Erythromycine		
	Vancomycine	Tilmicosine			
Boite3	Spiramycine				Spiramycine
					Fluméquine

Tableau09 : Liste des antibiotiques à tester pour Pseudomonas Spp :

ANTIBIOTIQUES
Colistine b
Ceftazidine a
Amoxicilline+Acide clavulanique a
Enrofloxacin
Gentamycine c

Tableau10 : Valeurs critiques CA-SFM : (standardisation de l antibiogramme 6 eme édition(2011))

Antibiotiques testés	Charge des (mm) Disques	Valeurs critiques des diamètres d'inhibition Antibiotiques testés		
		Charge des (mm) Disques		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
Ampicilline	25 µg	< 14	-	<-21
Amoxicilline+acide clavulanique	30µg	-	-	≥□21
ceftiofur	30 µg	< 12	-	≥□18
Flumequine	30 µg		-	≥□25
Enrofloxacin	500 µg	< 11	-	≥□17
Colistine	100 µg	< 19	-	≥□24
Cefalotine	10 µg	< 13	-	≥□15
Trimetoprim +sulfaméthoxazol				

Antibiotiques testés	Charge des (mm) Disques	Valeurs critiques des diamètres d'inhibition Antibiotiques testés		
		Charge des (mm) Disques		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
penicilline	10 µg	< 14	-	<- 21
Oxacilline	25 µg	< 14	-	<-21
cefoxitine	30µg	-	-	≥□21
enrofloxacin	30 µg	< 12	-	≥□18
Trimetoprim +sulfaméthoxazol	30 µg		-	≥□25
Tétracycline	500 µg	< 11	-	≥□17
Vancomycine	100 µg	< 19	-	≥□24
Erythromycine	10 µg	< 13	-	≥□15

Antibiotiques testés	Charge des (mm) Disques	Valeurs critiques des diamètres d'inhibition Antibiotiques testés		
		Charge des (mm) Disques		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
Amoxicilline+acide clavulanique	µg	-	-	≥□21
ceftiofur	µg	< 12	-	≥□18
Enrofloxacin	µg	< 11	-	≥□17
Colistine	µg	< 19	-	≥□24
Gentamycine				

Tableau11: Valeurs limites du diamètre des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité et charge des disques d'antibiotiques

Antibiotiques testes	Charge de disque s	E coli25922	P aeruginosa 27853	S aureus 25923
Amoxicilline	10	16-22	-	
Amoxicilline + Acide clavulanique	20/10	19-25	-	28-36
Acide nalidixique	30	22-28		
Céftazidine	30	-	22-29	
Cefotaxime	30	15-21		
Cefoxitime	30	29-35		
Céftiofur	30	-	14-18	23-29
Céphalotine	30	26-631		
Colistine	10	15-21		
Clindamycine	2	11-12		
Chloramphenicol	30	-		
Erythromycine	15	21-27		22-30
Enrofloxacin	5	-	15-19	27-31
Furanes	300	32-40		
Gentamycine	10	20-25	16-21	19-27
Néomycine	30	17-25		19-26
Norfloxacin	5	28-35		
Oxacilline	1	-		18-24
Penicilline	10 UI	-		26-37
Sepctiomycine	100	21-25		
Trimetoprim/sulfamethoxazole	1.25/23.75	23-29		24-32
Tetracycline	30	18-25		24-30
Tilmicosine	15	-		17-21
Vancomycine	30	-		17-21

Annexe

ANNEXE 04

Tableau12 : Principaux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire en Algérie

Antibiotique	Espèce animale	Observations particulières
1.β-Lactamines		
Ampicilline	Aviaire, bovine, caprine, équine, ovine, piscicole	Ces antibiotiques sont utilisés pour traiter les cas de septicémies, d'infections respiratoires et urinaires chez de nombreux animaux
Amoxicilline	Bovine	
Oxacilline	Bovine, caprine, équine, ovine	
Penicilline	Aviaire, bovine, caprine, cameline, équine, ovine, cunicole	
Amoxicilline+ Acide clavulanique	Aviaire, bovine, caprine, équine, ovine.	
Cefalotine	Bovine, caprine, équine, ovine	
Ceftiofur	Aviaire, bovine, caprine, équine, ovine, cunicole	
2. Aminosides		
2.1- Aminocyclitolés		
Spectinomycine	Aviaire, bovine, caprine, équine, ovine, cunicole et piscicole	
2-2.Aminoglycosides :		

Annexe

Streptomycine	Apicole, aviaire, bovine, caprine, equine, ovine, cunicole et piscicole.	Les aminoglycosides sont utilises dans le traitement des septicemies; des affections digestives, respiratoires et urinaires.
Neomycine	Apicole, aviaire, bovine, caprine, equine, ovine, cunicole	
Kanamycine	Aviaire, bovine, equine et piscicole	
Apramycine	Aviaire, bovine, cunicole, ovine	
Tobramycine	Equine	
Amikacine	Equine	
Framycetine	Bovine, caprine, ovine	
Rifamixine		
3. Cyclines :		
Doxycycline	Aviaire, bovine, cameline, caprine, équine, ovine, cunicole et piscicole.	Antibiotiques tres utilises dans le traitement de nombreuses maladies bactériennes chez beaucoup d'espèces animales.
Oxytetracycline	Apicole, aviaire, bovine, cameline, caprine, equine, ovine, cunicole et piscicole	
Tetracycline	Apicole, aviaire, bovine, cameline, caprine, equine, ovine, cunicole et piscicole	
4. Sulfamides et associes		
Sulfadimerazine	Aviaire, bovine, caprine, équine, ovine, cunicole	Les sulfamides seuls ou en combinaison avec les diaminopyrimidines sont tres utilises pour le traitement de beaucoup de pathologies et chez de nombreuses especes animales

Annexe

Sulfadimethoxine	Aviaire,bovine, equine,caprine, ovine,cunicole et piscicole .	
Sulfaguanidine	Caprine, ovine.	
Sulfadimethoxazole	Aviaire, bovine.	
Sulfamethoxine	Aviaire, piscicole.	
4.2- Sulfonamides+Diaminopyrimidines		
Trimethoprime+sulfonamide	Aviaire, bovine, caprine, equine, ovine,cunicole et piscicole .	
4.3- Diaminopyrimidines :		
Trimethoprime	Aviaire, bovine, caprine, equine , ovine,cunicole.	
5. Quinolones		
5.1- Quinolones de 1ere generation		
Flumequine	Aviaire, bovine, caprine, equine, ovine,cunicole et piscicole .	Les quinolones de 1ere et 2eme generation sont utilisees dans le cas des colibacillooses et des septicemies
Acide Nalidixique	Bovine	
Acide Oxolinique	Aviaire, bovine, cunicole etpiscicole	
5.2- Quinolones de 2eme generation (Fluoroquinolones)		
Ciprofloxacine	Aviaire, bovine	
Danofloxacine	Aviaire, bovine, caprine, cunicole et piscicole	

Annexe

Enrofloxacin	Aviaire, bovine, caprine et equine .	Les fluoroquinolones sont tres utilisees dans le traitement des maladies respiratoires chroniques(MRC) chez la volaille
Marbofloxacin		
Norfloxacin	Aviaire, bovine, caprine, cunicole et ovine	
6. Orthosomycines :		
Avilamycine	Aviaire et cunicole.	Antibiotique utilise pour traiter les maladies digestives de la volaille et des lapins. Tres efficace pour le traitement de l'enterite necrotique chez les poulets. Antibiotique utilise seulement chez l'animal.
7. Polypeptides :		
Bacitracine	Aviaire, bovine et cunicole .	Antibiotique indique dans le traitement des septicémies, de la colibacillose et des infections urinaires.
Colistine	Aviaire, bovine, caprine, equine,cunicole et ovine.	
Polymyxine	Aviaire, bovine, caprine, equine, cunicole et ovine.	
8. Macrolides :		
Erythromycine	Aviaire, apicole, bovine, caprine,equine,ovine,cunicole etpiscicole .	Antibiotiques utilises pour traiter les infections a mycoplasmes chez la volaille, les maladies digestives hemorragiques et les infections respiratoires chez les bovins

Annexe

Josamycine	Aviaire et piscicole	
Spiramycine	Aviaire, bovine, caprine, equine, cunicole, ovine et piscicole	
Tilmicosine	Aviaire, bovine, caprine, cunicole et ovine.	
Tylosine	Apicole, aviaire, bovine, caprine, cunicole et ovine.	
9. Lincosamides :		
Clindamycine	Aviaire, bovine, caprine ovine et piscicole	Antibiotiques essentiels dans le traitement des pneumonies a mycoplasmes, de l'arthrite infectieuse et de l'enterite hemorragique chez les ovins et les caprins.
10. Autres : Novobiocine	Bovine, caprine, ovine et piscicole	Antibiotique utilise chez les cas de septicemies chez les poissons et dans le traitement des mammites (sous forme de cremes intra mammaire en association avec la penicilline (10 unites/30 µg). Antibiotique utilise uniquement chez les animaux

A titre curatif : La nomenclature algérienne est établie en 2004 ,les molécules suivantes sont les plus utilisées sur le terrain.

- Antibiotiques suspendus de l'homologation :

_ Furanes : Nitrofurantoines.

_ Phenicoles : Chloramphenicol.

_ Aminosides : gentamicine.

Ces antibiotiques sont cependant testés au laboratoire dans le cadre de la surveillance de la Résistance des bactéries aux antibiotiques.

ملخص

يعتبر مرض التهاب الضرع من الأمراض المهيمنة في مجال تربية الأبقار الحلوب لعدم وجود دراسات شاملة لازمة لتحديد عوامل الخطر المرتبطة بهذه العدوى وكذلك معرفة البكتيريا المتسببة في هذا.

الهدف العام من هذا العمل هو التعرف على البكتيريا الرئيسية التي تشارك في التهاب الضرع وتحديد سلوكها تجاه المضادات الحيوية. تم تحديد سلالات البكتيريا المعزولة من 94 عينة حليب بقر في منطقة الأغواط واختبار للحساسية تجاه مضادات الميكروبات لهذه العزلة البكتيرية أثرت على 51.53% من العينات، تظهر النتائج أن هناك غلبة المكورات العنقودية، المكورات العنقودية الذهبية هي الأنواع البكتيرية المعروفة عالميا كما أن العامل الممرض الأكثر انتشارا يمكن أن يسبب حالات كثيرة من التهاب الضرع الحاد والتهاب الضرع تحت الإكلينيكي عزل بضعة سلالات من البكتيريا المعوية و سلالات واحدة من *Pseudomonas aeruginosa*. نتائج اختبار للحساسية تجاه مضادات الميكروبات أظهرت أن هناك حساسية عالية للمكورات العنقودية تجاه المضادات الحيوية المستعملة. بالنسبة لمعزولة البكتيريا المعوية، المضادات الحيوية التي تم اختبارها للبكتيريا المعزولة التي تعتبر مقاومة طبيعية للبيتا لاكتام في عزلات *Serratia SP* ووجود بيتا لاكتاماز في *Klebsiella SP* و

Pseudomonas aeruginosa

الكلمات المفتاحية معزولة البكتيريا حساسية تجاه مضادات الميكروبات مقاومة تجاه مضادات الميكروبات

Résumé

Les mammites bovines constituent une pathologie dominante dans les élevages bovins laitiers il faut signaler le manque d'études approfondies, indispensables pour cerner les facteurs de risque associés à ces infections mammaires ainsi que la connaissance des bactéries responsables.

L'objectif général visé dans ce travail est d'identifier les principales bactéries impliquées dans les mammites et de déterminer leur comportement par rapport aux antibiotiques. Des souches isolées à partir de 94 prélèvements de lait bovin au niveau de la région de LAGHOUAT ont été identifiées et testées par un antibiogramme L'isolement bactérien a concerné 25.53% des échantillons. Les résultats obtenus démontrent qu'il y a une prédominance des Staphylocoques, le *Staphylococcus aureus*, est une espèce bactérienne connue sur le plan mondial comme un agent pathogène majeur de la glande mammaire capable de provoquer autant des mammites cliniques aiguës et des mammites subcliniques et quelques souches d'entérobactéries et une seule souche de *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats de l'antibiogramme montrent une importante sensibilité des staphylocoques ; aux antibiotiques testés pour les entérobactéries isolées considérées comme des agents environnementaux on note une résistance naturelle aux bêta lactames chez les isolats de *Serratia SP* et présence d'une bêta lactamase chez *Klebsiella SP* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Mot clés : Isolats de Mammite sub-clinique, Résistance, Sensibilités, antibiotiques

Abstract

Bovine mastitis is a dominant pathology in dairy cattle farms. It should be pointed out that there is a lack of in-depth studies to identify the risk factors associated with these mammary infections as well as knowledge of the bacteria responsible. The general objective of this work is to identify the main bacteria involved in mastitis and to determine their behavior in relation to antibiotics. Strains isolated from 94 bovine milk samples in the LAGHOUAT region were identified and tested by an antibiogram. The bacterial isolation concerned 25.53% of the samples. *Staphylococcus aureus* is a bacterial species known worldwide as a major pathogen of the mammary gland capable of causing both subclinical acute mastitis and mastitis, and isolation of a few strains of enterobacteria and a single strain of *Pseudomonas aeruginosa*. The results of the antibiogram show a high sensitivity of staphylococci; Antibiotics Tested for Isolated enterobacteria considered as environmental agents natural. The results of the antibiogram show a high sensitivity of staphylococci; antibiotics tested for Isolated Enterobacteriaceae considered as environmental agents natural resistance to betalactam in isolates of *Serratia SP* and presence of betalactamase in *Klebsiella SP* and *Pseudomonas aeruginosa* to betalactam and presence of betalactamase for some isolate

Key words : Subclinical Mastitis Isolates, Resistance, Sensitivity, Antibiotics Isolates