

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Nutrition



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Alimentaire

Spécialité : Agroalimentaire et Contrôle de Qualité

Présenté par :

Ait Salem Narimane

Benallou Houaida Nada

Thème

**Contribution à l'étude de l'antibiorésistance des
bactéries isolées du lait cru mamiteux**

Soutenu publiquement le 30 juin 2024

Jury :		Grade
Président :	Acem K.	Pr
Encadrant :	Bouteldja R.	Dr
Co-encadrant :	Abdi F.Z.	Dr
Examineur :	Abbas M.A	MCA

Année universitaire 2023-2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

*Nous tenons à tout d'abord à remercier Allah tout puissant
miséricordieux qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce
modeste travail et a permis que nous soyons ce que nous sommes
aujourd'hui « EL Hamdoulillah »*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Dr. Bouteldja
Rachida et Dr. Abdi Fatima Zohra pour avoir acceptée d'encadrer ce
travail et pour ses conseils et ses précieuses orientations, sa patience qu'il
n'a cessée de nous apporter tout au long de ce travail.*

*Nous tenons tout particulièrement à remercier vivement les
membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce modeste travail Pr. Acem
K. et Dr. Abbas M.A.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude et notre respect à Pr. Aggad H.
pour nous avoir accueillis dans son laboratoire.*

*Nous remercions chaleureusement toute l'équipe de laboratoire pour
leurs disponibilités, pour leurs gentillesse M^{me} Benhammouda Leïla Soher
et Mr. Doucene Radhouane.*

*Enfin, nous remercions toute personnes qui ont participé de près ou de
loin à la réalisation de ce modeste travail.*

Dédicace

Je rends grâce à **Allah** pour toutes les bénédictions qu'Il m'accorde dans ma vie. Sa miséricorde et Sa générosité illuminent mon chemin chaque jour. Je suis reconnaissante pour Sa guidance, Sa protection et Sa sagesse qui m'accompagnent à chaque étape de ma vie. Que Ses bénédictions et Sa grâce continuent à remplir mon cœur de gratitude et de paix. « **Alhamdulillah** ».

À mes parents « *Bettaher ; Kheira* »

Vous êtes mes piliers, mes guides, et mes héros. Votre amour inconditionnel, vos sacrifices et votre soutien infatigable m'ont porté tout au long de ce voyage. Chaque pas que j'ai franchi, je le dois à votre foi inébranlable en moi. Merci pour tout ce que vous avez fait et continuez de faire. Je vous dédie ce travail avec tout mon amour et ma gratitude éternelle.

À mes frères et sœurs

« **ADEL; HOUSSAM; BOUABDELLAH; BETTAHER; ABDEL MALEK; MOHAMMED** »

« **AICHA ; ZINAIDA ; RAOUNAK ; MALAK ; ROFAIDA ; HADIL** »

Votre soutien a été mon refuge dans les moments de doute. Vous avez été mes confidents, mes amis et mes alliés. Merci pour votre patience, vos encouragements et vos mots réconfortants. Ce mémoire est aussi le vôtre.

À tous mes professeurs

Pour votre présence à mes côtés, pour votre soutien, pour vos conseils, pour l'attention que vous me portez, pour vos grandes gentillesse ; pour vos générosités merci énormément.

À mon ange « *Imen* »

Tu es une étoile brillante dans ma vie. Merci de toujours être là pour moi, de me pousser à aller plus loin et de me rappeler que rien n'est impossible tant que nous sommes ensemble.

À ma binôme « *Narimane* »

Merci d'être une partenaire si fiable, inspirante et déterminée. Je suis reconnaissante de t'avoir à mes côtés.

À mes chers amis « **Rania ; Nessrine ; Meriem ; Manicha ; Fatiha ; Imen ; Romaiassa ; Aicha ; Manal ; Chahinez ; Khaldia et Hadil** »

Votre présence à mes côtés a été une source immense de réconfort et de motivation. Merci pour vos encouragements constants, vos rires partagés et vos mots d'encouragement qui m'ont aidé à rester sur la bonne voie.

Houaida Nada

Benallou

Dédicace

A mon cher père Hamíche

Je dédie ma réussite à mon cher Papa qui n'est plus de ce monde et avec qui j'aurai aimé partager beaucoup d'autres choses. Sache qu'une partie de toi vit en moi et que tu as tout mon amour Et ma reconnaissance à jamais.

A mon adorable mère Zohra

C'est avec beaucoup de fierté et d'amour que mon cœur exprimer tout ce dont il ressent toi la lumière qui a guidé chacun de mes pas, la force qui a soutenu mes rêves, et l'épaule sur laquelle j'ai toujours pu m'appuyer, tu as été ma confidente et ma conseillère. Chaque sourire que je porte et chaque succès que je célèbre te reviennent grâce à ta fameuse éducation. Mon plus grand vœu serait de te combler de tout ce dont tu aspirés et te rendre une partie de tes sacrifices pour nous tes filles. Maman ont t'aime.

A ma très chère tante Karíma

Ma deuxième maman, pour qui j'ai de l'amour et de l'estime, un modèle de femme forte et indépendante, qui a toujours cru en moi et en mes rêves. Merci pour tes câlins réconfortants et les sincères encouragements et tes sacrifices silencieux. Ton amour inconditionnel est la clé de ma vie.

A ma chère sœur Sarra

Qui a toujours su comment faire régner la joie et le bonheur autour de moi ta présence est un réconfort même si on se chamaille pour des futilités. Tu es un trésor et mon plus beau cadeau.

A toute ma famille

Mes oncles et mes cousins et cousines, que Dieu veille sur vous et vous donne longue vie pleine de bonheur et santé.

A mon binôme Houaída Nada

Je ne trouve par les morts justes et sincères pour t'exprimer mon affection et mon admiration à ton égard. Puisse Dieu te procure santé, bonheur, courage et surtout réussite dans ta vie. Belle âme.

A mes chères amies

Fatíma, Amíra, Lamía, Aícha, Manel, Khaldía et *Chahínez* au nom de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments passés ensemble, que la vie vous soit agréable et pleine de succès dans tous les domaines une vie pleine de bonheur.

Narímane

Liste des abréviations

ADH : Arginine-Di hydrolase

AK30 : Amikacine

API 20 E : Appareillage et Procédés
d'Identification des Entérobactéries

ATB : Antibiotiques

CIT : Citrate de Simmons

CX30 : Cefoxitin

E. coli : *Escherichia coli*

EMB : Eosine Méthylène Bleu

H₂O₂: Peroxide d'hydrogène

H₂S: thiosulfate

IND: inhomogène

K30 : Kanamycine

L2 : Lincomycin

LDC : Lysine-décarboxylase

LDC : Lysine-décarboxylase

MH : Gélose Muller-Hinton

ODC : Ornithine-décarboxylase

ONPG: Ortho-Nitrophenyl-β-D-
Galactosidase

P10 : Pénicilline

S. spp : *Staphylococcus spp*

S. xylosus : *Staphylococcus xylosus*

TDA : Tryptophane désaminase

TSI : Triple Sugar Iron.

URE : Uréase

VA30 : Vancomycine

VF : Viande-foie

VP : Vague proskauer

Liste de figures

Figure N° 01 : La mammite chez les vaches laitières.....	04
Figure N° 02 : Diverses sources de micro-organismes à l'origine de la mammite bovine.....	06
Figure N° 03 : Processus d'infection.....	07
Figure N° 04 : Impact sociaux économiques des mammites en Algérie.....	08
Figure N° 05 : Nombre de décès dans le monde attribuables à la résistance bactérienne aux antimicrobiens, par combinaison pathogène-médicament 2019.....	09
Figure N° 06 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries.....	10
Figure N° 07 : Une vache atteinte de mammite.....	16
Figure N° 08 : Prélèvement Du lait.....	16
Figure N° 09 : Les dilutions des échantillons du lait.....	17
Figure N° 10 : Technique d'ensemencement sur surface ; Prélevé de l'échantillon, ensemencement de l'échantillon ; Étalement de l'échantillon sur la surface.....	18
Figure N° 11 : Présence des entérobactéries et Staphylocoques dans l'échantillon d'étude.....	26
Figure N° 12 : Observation microscopique d'E. coli après coloration de Gram.....	28
Figure N° 13 : Résultat de l'identification dans la galerie Api 20E.....	29
Figure N° 14 : (a) Observation microscopique après coloration de Gram. (b) test à la coagulase de Staphylococcus spp.....	30
Figure N° 15 : Résultats de la galerie API STAPH.....	31
Figure N° 16 : La moyenne de la résistance bactérienne de la souche S. xylosus aux antibiotiques.....	31
Figure N° 17 : La moyenne de la résistance bactérienne de la souche E. coli aux antibiotiques.....	32
Figure N° 18 : Mesure des zones d'inhibition des antibiotiques.....	33

Figure N° 19 : Résultat de réaction d'antibiotique sur la souche Staph et de la souche E. coli.....33

Liste des tableaux

Tableau N° 01 : Matériel et produits utilisés.....	15
Tableau N°02 : Caractères morphologie des souches isolées.....	27
Tableau N°03 : Caractères biochimique des souches obtenues.....	27

Liste des annexes

Annexe I : Résultats des galeries.....	52
Annexe II : Composition des milieux de culture.....	54
Annexe III : Résultats des tests biochimiques.....	57
Annexe IV : Résultats d'antibiogramme.....	60
Annexe V : Techniques utilisées.....	61
Annexe VI : matériel et appareillage.....	62

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Introduction 1

Partie Bibliographique

I. Mammite	4
A. Définition de la Mammite	4
B. Types de Mammite.....	4
1. Mammite Clinique.....	4
2. Mammite subclinique	4
C. Mécanisme d'affection des mammites.....	6
D. Traitement des mammites	8
E. Impact sociaux économiques des mammites	8
II. Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	9
1. Prévalence de l'antibiorésistance	9
2. Mécanisme de la résistance aux antibiotiques.....	10
III. Impact sociaux économique des bactéries multirésistantes	11
IV. Facteurs de risque associés à la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du lait cru.....	12
V. Partenaires impliqués dans la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du lait cru ..	13

Matériel et méthode

I. Objectifs du travail.....	15
II. Lieu et période d'étude	15
III. Matériel et produit utilisés	16
I. Partie microbiologique.....	17
1) Échantillonnage du lait.....	17
II. Recherche et isolement des bactéries Recherche et dénombrement de quelques bactéries présentes dans lait cru mamiteux	18
A. Préparation des dilutions	18
B. Ensemencement.....	18
III. Recherche et isolement des Bactéries associés aux mammites.....	19
A. Recherche et isolement d' <i>Escherichia coli</i> le milieu Eosine Méthylène Blue (EMB)	19
B. Recherche et isolement des bactéries de <i>Staphylococcus spp</i>	20
IV. Caractéristiques biochimiques	20
a) Les galeries API	24
i. Identification d' <i>Escherichia coli</i> par la galerie Api 20 E	24
ii. Identification des <i>Staphylococcus</i> par la galerie Api staph permet d'effectuer les tests suivants.....	24
V. Antibiogramme	25

Résultat et discussion

I. Isolement et Identification des bactéries liée aux mammites.....	27
A. Isolement	27
B. Identification	27
a. Étude morphologique	27
VI. Etude de la sensibilité des souches	32

A. Antibiogramme.....	32
Conclusion.....	Erreur ! Signet non défini. 37
Liste Des Références	40
Annexe	51
Résumé	66

Introduction

Introduction

La mammite est une affection inflammatoire de la glande mammaire qui affecte considérablement les bovins laitiers dans le monde entier, entraînant des pertes économiques importantes en raison de la détérioration de la qualité du lait et des coûts de traitement et de remplacement des animaux **Coimbra-e-Souza et al. (2017)**. En effet, cette maladie est caractérisée par des infections microbiennes, notamment par des bactéries du genre *Staphylococcus* appartenant à différentes espèces à coagulase positive et à coagulase négative et *Escherichia coli* (**Kerro Dego et Vidlund, 2024**).

Le traitement de cette infection nécessitant l'utilisation d'antibiotiques, il est crucial d'étudier la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du lait cru pour plusieurs raisons. Tout d'abord, elle permet d'approfondir notre compréhension de la dynamique de la résistance au sein des populations bactériennes présentes dans le lait, ce qui peut avoir un impact sur les stratégies de traitement et de gestion du bovin. Deuxièmement, elle joue un rôle essentiel dans la sécurité alimentaire en identifiant les bactéries pathogènes qui pourraient être transmises aux consommateurs par le lait cru. Enfin, cette étude est d'une importance capitale pour la mise en œuvre de politiques de santé publique visant à restreindre l'utilisation des antibiotiques dans le secteur de l'élevage et à prévenir la propagation de bactéries résistantes.

Aujourd'hui, la résistance aux antibiotiques constitue une menace majeure pour la santé publique mondiale et touche de nombreux secteurs, dont l'industrie laitière. Le lait cru, en particulier le lait provenant de vaches souffrant de mammites, peut être un vecteur potentiel de propagation de bactéries résistantes aux antibiotiques (**Elbehiry et al., 2021**).

Des recherches récentes ont mis en évidence une augmentation inquiétante des cas de résistance aux antibiotiques parmi les bactéries présentes dans le lait cru. Les recherches menées par **Khanal et al. (2022)**, ont révélé une incidence élevée de *Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline (SARM) dans les exploitations laitières néerlandaises.

De plus, une étude d'**Ijaz et al. (2024)**, a révélé la présence de bactéries multirésistantes dans le lait cru de vaches souffrant de mammites, suggérant qu'elles pourraient se propager dans la chaîne alimentaire. Ces recherches, parmi d'autres, soulignent l'importance des actions de surveillance et de contrôle pour prévenir l'augmentation de la résistance aux antibiotiques.

Introduction

La présente contribution vise à approfondir la compréhension de l'antibiorésistance des bactéries isolées du lait cru mamiteux à travers l'isolement et identification des principaux agents pathogènes présents dans le lait cru de vaches atteintes de mammites. (*Escherichia coli* et *Staphylococcus spp*) et l'évaluation de profil de résistance aux antibiotiques de ces bactéries pathogènes avec une série d'antibiotiques fréquemment employés dans le traitement des mammites.

Pour achever ces objectifs, notre étude est subdivisée en deux parties :

✓ Une première partie bibliographique, regroupe, les conceptions théoriques de bases relatives à notre thème.

✓ Une deuxième partie expérimentale, comprenant :

Un chapitre porte l'ensemble des matériels et des méthodes utilisés pour l'isolement, l'identification et la caractérisation des bactéries relatives aux mammites (*E. coli* et *Staphylococcus spp*), ainsi la détermination de leurs profil antibiorésistants vis-à-vis les antibiotiques plus utilisés dans le traitement des mammites.

Le deuxième chapitre qui, s'intéresse à la discussion des résultats obtenus, ainsi que leur interprétation, et enfin une conclusion générale tout en présentant quelques perspectives pour la présente étude.

Synthèse

Bibliographique

I. Mammite

A. Définition de la Mammite

La mammite est une affection inflammatoire de la glande mammaire le plus souvent causée par une infection bactérienne. Cette maladie affecte principalement les vaches laitières, mais peut également toucher d'autres animaux ainsi que les humains (FAO, 2022).

B. Types de Mammite

Selon la FAO (2022), la mammite peut être classée en deux types principaux : clinique et subclinique

1. Mammite Clinique

Cette forme se caractérise par des signes visibles tels que le gonflement, la rougeur, la chaleur et la douleur de la mamelle, ainsi que des altérations dans l'apparence du lait, qui peut contenir du pus, des caillots ou du sang (Ruegg, 2021).

2. Mammite subclinique

Pas de symptômes externes évidents, mais détectables grâce à des tests de laboratoire montrant une amélioration du nombre de cellules somatiques dans le lait ou une modification de la composition chimique du lait (Barkema et al., 2020).

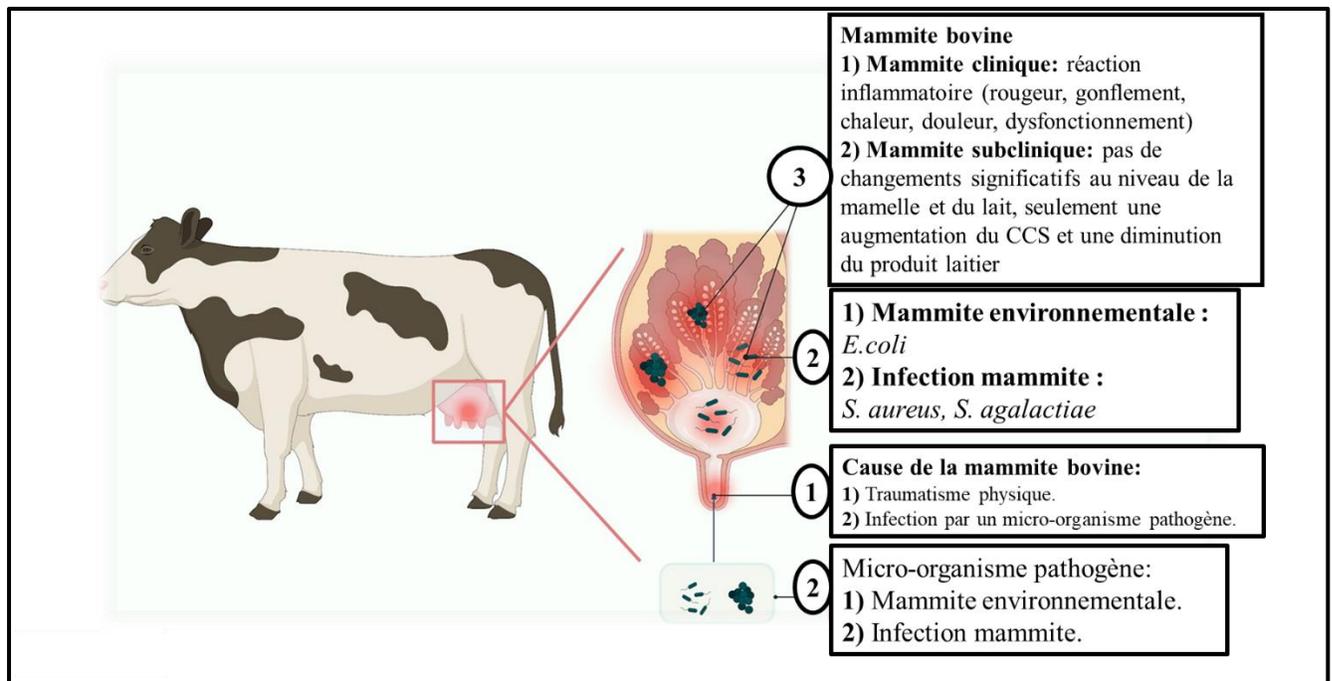


Figure N° 01 : La mammite chez les vaches laitières (Xiaoping et al., 2023).

➤ Etiologies

Selon le cas d'affection, on distingue une mammite d'origine contagieuse, environnementales et génétiques.

➤ Agents Contagieuses

Les bactéries sont principalement l'agent causales des mammites contagieuses, parmi les bactéries isolées à partir des laits mamiteux, on trouve :

▪ *Staphylococcus spp*

- Le principal responsable des mammites contagieuses.
- Il peut entraîner des infections persistantes et chroniques (**Zadoks et al., 2009**).

▪ *Mycoplasma spp*

- Crée des mammites contagieuses qui sont difficiles à lutter contre.
- Fréquemment lié à des épidémies de troupeaux (**Fox, 2012**).

➤ Agents environnementaux

Les bactéries présentes dans l'environnement de la vache, comme la litière, le sol et l'eau, sont responsables des mammites environnementales.

▪ *Escherichia coli*

La bactérie *Escherichia coli* est couramment associée à la mammite environnementale. Cette forme de mammite survient généralement à la suite d'infections par des bactéries présentes dans l'environnement de la vache, telles que la saleté ou le fumier, et peut entraîner des maladies aiguës sévères (**Hogan et Smith, 2003**).

▪ *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae est une autre bactérie importante associée à la mammite chez les vaches laitières. Elle peut provoquer des infections sévères et résistantes aux traitements (**Fox, 2009**).

▪ *Mycoplasma spp*

Les infections à *Mycoplasma spp* sont relativement rares mais peuvent causer des cas graves et chroniques de mammite chez les vaches laitières (Nicholas et al., 2009).

➤ **Agents génétiques**

Les infections sont influencées par les facteurs génétiques et l'âge des laitières. Les vaches qui produisent beaucoup sont plus sensibles, tandis que les vaches qui produisent peu sont moins sensibles. Le mamelon est aussi susceptible d'être sensible à l'infection.

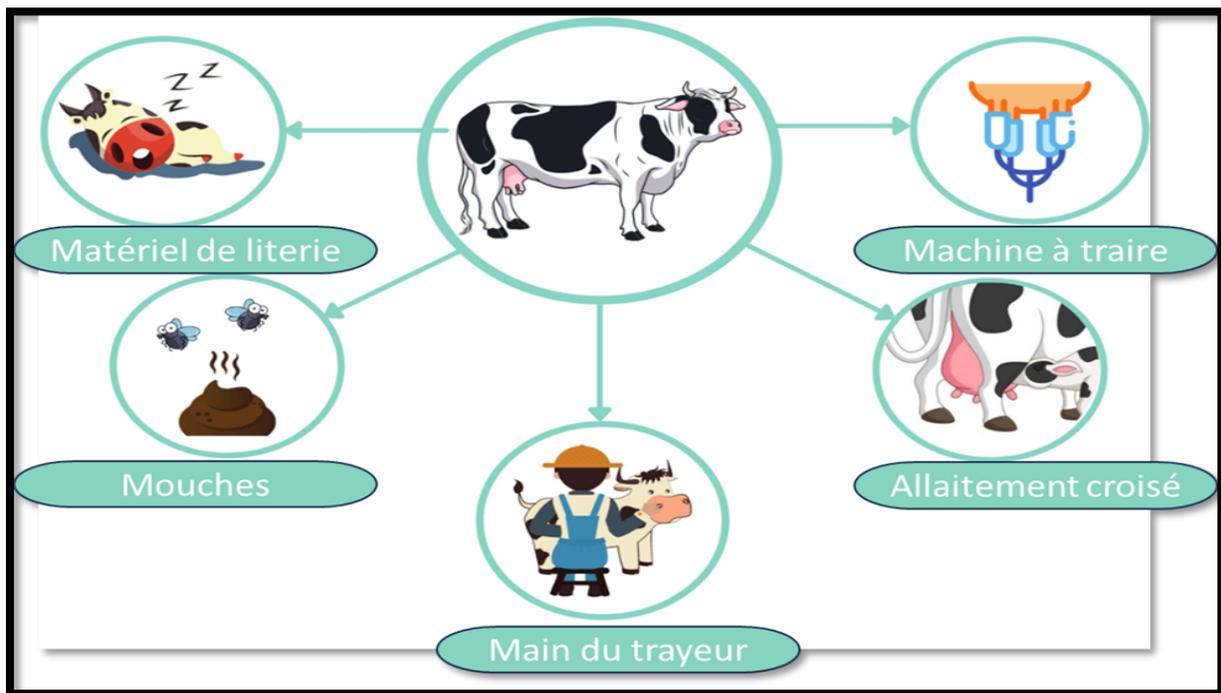


Figure N°02 : Diverses sources de micro-organismes à l'origine de la mammite bovine (Ragul et al., 2023).

C. Mécanisme d'affection des mammites

Il existe plusieurs étapes cruciales dans le processus d'infection des mammites chez les vaches laitières :

Etape1 : Bactéries introduites dans le canal du trayon

Le canal de Trayon est principalement utilisé par des bactéries commensales comme *Escherichia coli*, qui peuvent être introduites pendant le traitement lorsqu'elles sont exposées à des surfaces ou à des équipements contaminés (Keane et Kerr, 2012).

Etape 2 : Transfert des bactéries vers le tissu mammaire

L'immunité de la vache se met en marche, ce qui entraîne une accumulation de cellules immunitaires (leucocytes) dans la mamelle afin de lutter contre l'infection ce qui manifeste par une inflammation (Leitner et al., 2018).

Etape 3 : Stimulation inflammatoire

Les bactéries provoquent une inflammation dans la mamelle, entraînant des symptômes cliniques tels que chaleur, rougeur, œdème et douleur, réduisant potentiellement la production de lait et provoquant une contamination de pus ou de sang (Ruegg, 2017).

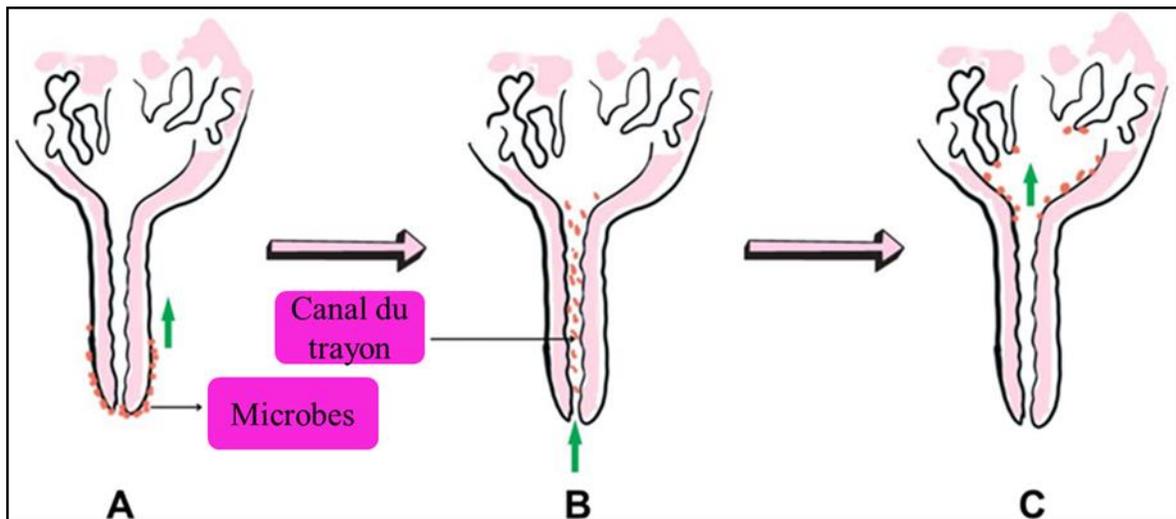


Figure N°03 : Processus d'infection (Ragul et al., 2023).

(A) Les microbes adhèrent au trayon.

(B) Ils migrent dans le canal du trayon.

(C) Les microbes colonisent les cellules sécrétoires et produisent des toxines dans les cellules productrices de lait.

D. Traitement des mammites

Pour maîtriser cette infection, un programme de contrôle est recommandé :

1. Entretien de la machine à traire.
2. Désinfection des trayons lors de la traite.
3. Traitements précoces des cas de mammites cliniques.
4. Traitements au tarissement.
5. Mise à la réforme des vaches atteintes de mammite chronique (**Cheng et al., 2020**).

Une fois que les bactéries ont infecté la mamelle et que la mammite est déclarée, traiter la vache selon la prescription du vétérinaire :

1. Eliminer les bactéries rapidement et de manière efficace en utilisant un traitement antibiotique ciblé par voie intra-mammaire, après désinfection du trayon.
2. Utiliser des antibiotiques (par voie générale) adaptés au cas clinique.
3. Faire diminuer l'inflammation à l'aide de l'utilisation éventuelle d'un anti-inflammatoire (**Cheng et al., 2020**).

N.B. Selon l'OMS (2020), L'usage abusif ou excessif inapproprié des antibiotiques lors de traitement des mammites peut engendrer et accélérer le phénomène de la résistance bactérienne

E. Impact sociaux économiques des mammites

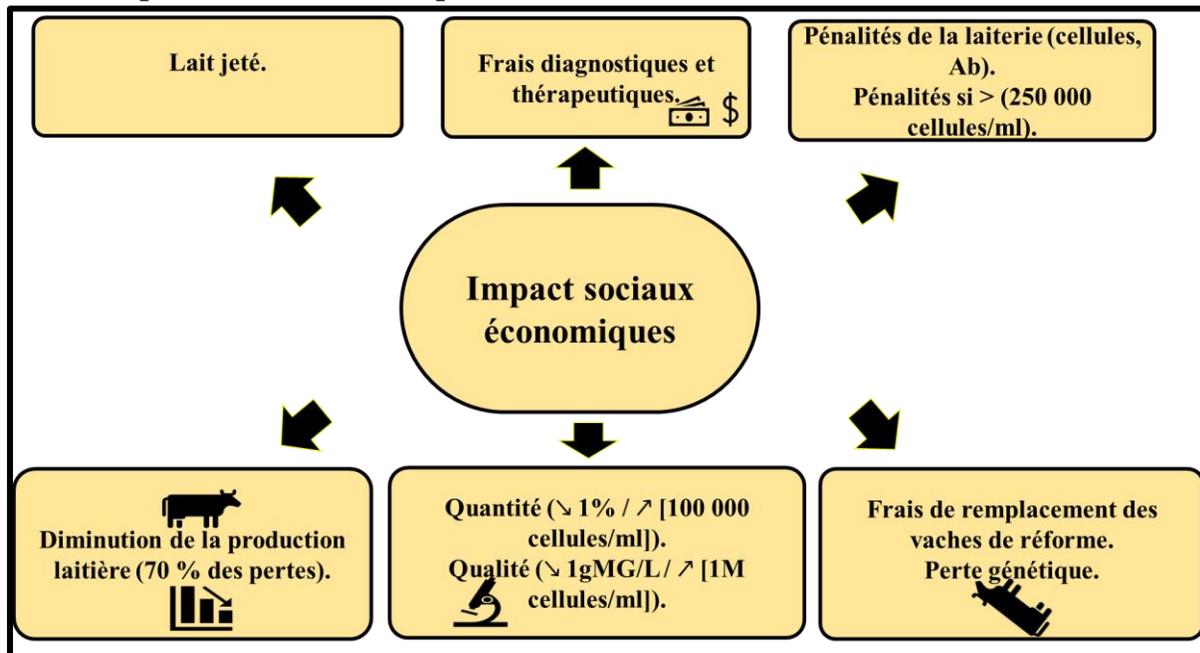


Figure N°04 : Impact sociaux économiques des mammites en Algérie (**Bouaziz, 2020**).

II. Résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques représente une menace à l'échelle mondiale qui présente un impact sur la santé des animaux et des êtres humains. La résistance s'est développée en raison de l'utilisation incorrecte des antibiotiques dans les secteurs de la santé humaine, de l'agriculture, de l'aquaculture et de l'élevage, ainsi que dans l'industrie agro-alimentaire. Aussi la mauvaise gestion des eaux usées et des déchets dans l'environnement contribue à la propagation rapide de la résistance (OMS, 2020).

1. Prévalence de l'antibiorésistance

L'antibiorésistance est un problème mondial en raison de ses divers facteurs.

Selon l'OMS (2023), La résistance aux antimicrobiens (RAM) constitue une menace mondiale majeure pour les secteurs de la santé humaine, animale et végétale, de l'alimentation et de l'environnement.

D'après les estimations, en 2019, près de 5 millions de décès étaient associés à la RAM bactérienne, dont 1,27 million directement entraînés par celle-ci.

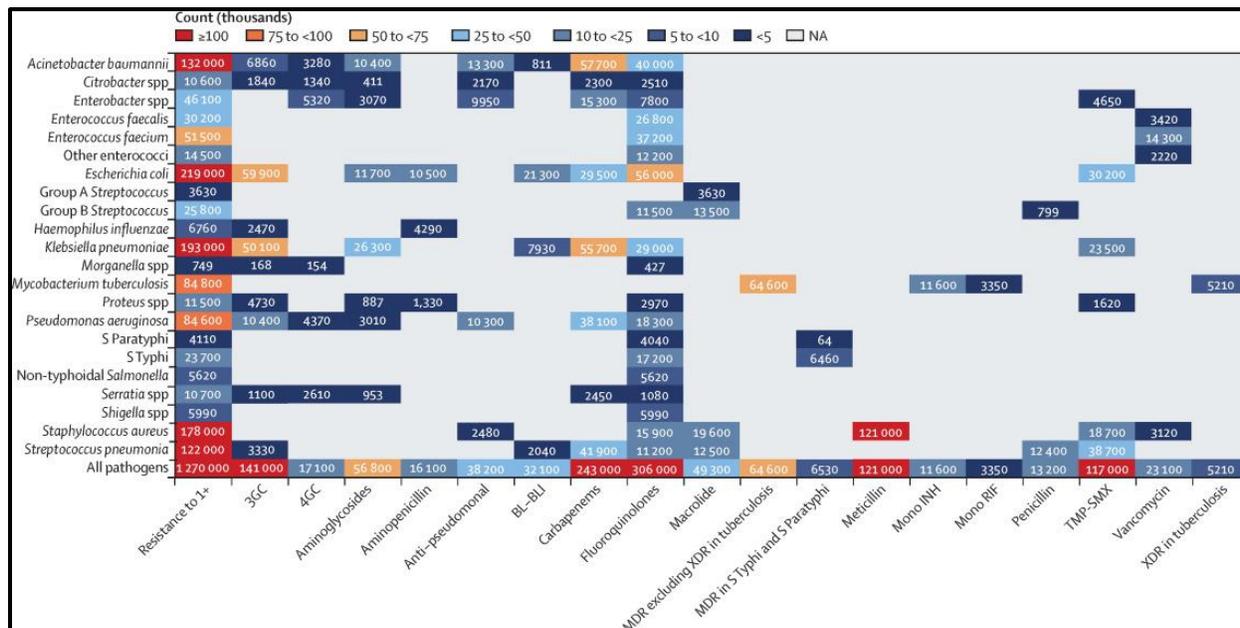


Figure N°05 : Nombre de décès dans le monde attribuables à la résistance bactérienne aux antimicrobiens, par combinaison pathogène-médicament 2019 (Elsevier, 2022)

2. Mécanisme de la résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques se produit par le biais de plusieurs mécanismes (**Figure N° 06**) ; les plus courants permettent aux bactéries d'expulser les antibiotiques dès qu'ils pénètrent dans l'organisme ou d'en bloquer l'entrée. Elles peuvent également les dégrader ou les modifier, ce qui les rend inefficaces. Elles peuvent même modifier la cible des antibiotiques pour qu'ils n'agissent plus (**Mérodie et Pascale, 2019**).

La résistance des bactéries aux antibiotiques est le résultat d'un mécanisme de défense interne qui s'est développé en réponse à des facteurs potentiellement nuisibles à l'environnement. Types courants d'antibiotiques basés sur leurs méthodes inhibitrices comprennent ceux qui visent la paroi cellulaire et des voies métaboliques alternatives (**Amna et al., 2024**)

Les antibiotiques qui s'attaquent à la formation de la paroi cellulaire, tels que les macrolides, les céphalosporines et les inhibiteurs de la β -lactamase, sont efficaces contre les bactéries Gram-positives. L'efficacité des aminosides, des polymyxines et des quinolones contre les bactéries à Gram négatif repose sur l'inhibition de la production de protéines par les bactéries. Les bactéries peuvent devenir résistantes aux antibiotiques en raison du mécanisme d'efflux, des changements dans les cibles des médicaments, des perturbations de la membrane et des contours métaboliques. Les antibiotiques peuvent également devenir résistants en raison de modifications des cibles des médicaments, de modifications de la membrane et de modifications des cibles des médicaments (**Kuljinder et al., 2024**)

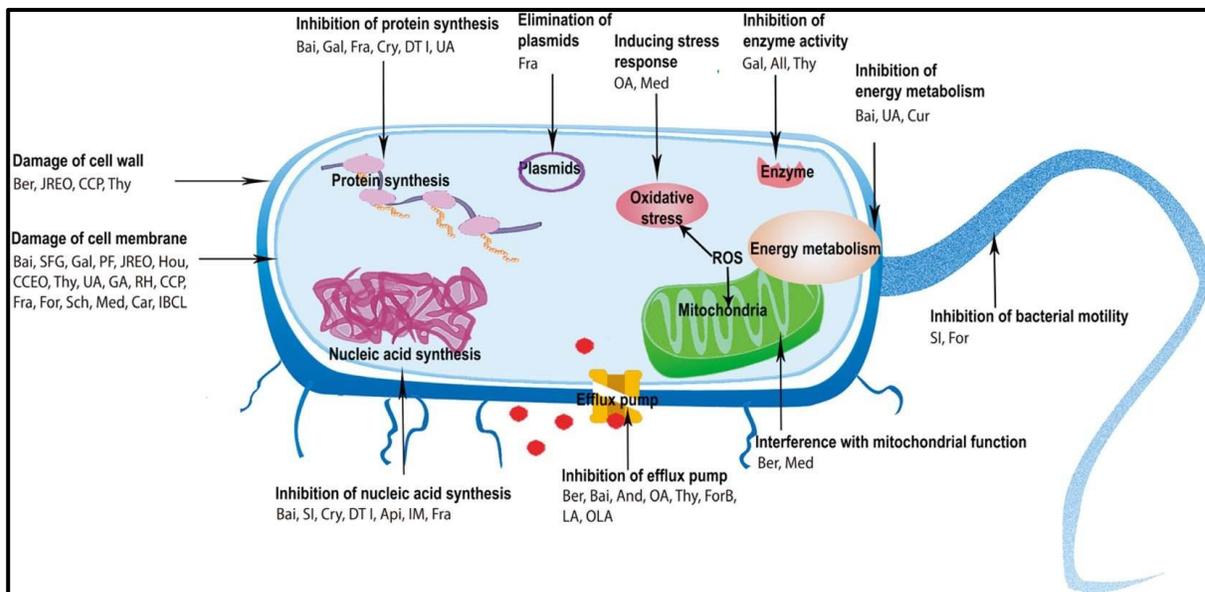


Figure N° 06 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries (Jingru, 2022).

III. Impact social économique des bactéries multirésistantes

La résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du lait cru à un certain nombre d'effets néfastes confirmés par la recherche scientifique.

La résistance aux antibiotiques des bactéries présentes dans le lait cru constitue un risque important pour la santé publique **Collignon et al. (2009)**. En effet, ce phénomène de résistance peut rendre les infections plus difficiles à traiter, entraînant des maladies de longue durée, des complications et même la mort (**Martinez, 2012**).

Les bactéries résistantes peuvent également se propager à d'autres bactéries dans l'environnement et dans l'intestin humain, entraînant une prévalence globale de la résistance aux antibiotiques et une réduction de l'efficacité de ces médicaments vitaux dans le traitement des infections courantes **Allen et al. (2010) ;Ventola (2015)**. Cette situation peut se traduire par une augmentation des coûts des soins de santé en raison de la nécessité de traitements plus coûteux, de séjours hospitaliers plus longs et de l'utilisation d'antibiotiques de dernier recours **Schroeder. (2012)** Le risque d'épidémies et de pandémies de grande ampleur dû à la baisse d'efficacité des antibiotiques souligne encore la gravité de ce problème de santé publique (**O'Neill, 2016**).

IV. Facteurs de risque associés à la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du lait cru

Plusieurs facteurs contribuent à la résistance des bactéries isolées du lait cru. Parmi ceux-ci figurent les facteurs mentionnés ci-dessus :

A. Utilisation d'antibiotiques chez les animaux destinés à l'élevage

L'utilisation excessive et abusive d'antibiotiques dans la production d'animaux laitiers est une cause majeure du développement de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries isolées du lait cru. Des études ont montré un lien entre la prescription d'antibiotiques dans la production animale et le développement de la résistance aux antibiotiques dans le lait (**Aarestrup, 2005**).

B. Transfert de gènes de résistance par l'intermédiaire de bactéries

On peut considérer que les bactéries présentes dans l'environnement naturel des animaux laitiers, comme le sol, l'eau et les aliments pour animaux, sont un vecteur pour les gènes de résistance aux antibiotiques, qui sont ensuite transférés aux bactéries présentes dans le lait. Des études ont montré que la transmission de gènes de résistance à travers le paysage peut favoriser la propagation de la résistance aux antibiotiques dans la population bactérienne (**Marshall et al., 2011**).

C. Mesures d'hygiène dans les exploitations laitières

Dans les exploitations laitières, la qualité hygiénique des installations et des équipements, ainsi que les conditions générales, peuvent avoir un effet sur la présence de bactéries résistantes dans le lait cru **Sivaramalingam et al. (2013)**. Les procédures de stockage et de transformation du lait cru peuvent également avoir un effet sur le cycle de vie des bactéries résistantes (**Oliver et al., 2009**).

D. Interaction entre les animaux et l'environnement

La probabilité de rencontrer des bactéries résistantes et de transférer des gènes de résistance est accrue par l'interaction des animaux laitiers avec d'autres animaux et avec l'environnement. En outre, les relations entre les différentes populations bactériennes dans l'environnement de la ferme peuvent contribuer à la transmission de la résistance aux antibiotiques (**Wellington et al., 2013**).

V. Partenaires impliqués dans la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du lait cru

La résistance aux antibiotiques des bactéries isolées du lait cru a des origines diverses. Un facteur clé est l'utilisation déraisonnable ou malavisée d'antibiotiques dans l'industrie laitière, comme l'a souligné **Aarestrup en 2005**. Il s'agit notamment des vétérinaires qui prescrivent et administrent des antibiotiques aux animaux **Moreno (2014)**. En outre, les bactéries ont la capacité naturelle d'acquérir des gènes de résistance par des mécanismes tels que la transformation ou l'interaction génétique avec d'autres bactéries **Marinho et al. (2019)**. Enfin, même les pratiques d'hygiène des consommateurs peuvent influencer la propagation de ces bactéries résistantes aux traitements dans le lait cru (**Sivaramalingam et al., 2013 ; Olaimat et al., 2019**).

Matériel

Et

Méthodes

II. Matériel et méthodes

I. Objectifs du travail

- ✓ Identifier et caractériser les bactéries pathogènes les plus fréquemment rencontrées dans le lait cru mamiteux (*Escherichia coli* et *Staphylococcus spp*).
- ✓ Evaluer le profil de sensibilité des bactéries isolées vis-à-vis d'une gamme d'antibiotiques couramment utilisés dans le traitement des mammites.

II. Lieu et période d'étude

La présente étude a été réalisée au sein du Laboratoire d'Hygiène et de Pathologie Animale de l'Institut des Sciences Vétérinaires "Université Ibn Khaldoun-Tiaret" durant une période s'étendant du 28 janvier 2024 au 30 mai 2024.

III. Matériel et produit utilisés

Tableau N° 01 : Matériel et produits utilisés.

Matériel et appareillages	Réactifs	Milieux de culture	Antibiotiques
Agitateur magnétique thermique	Disques ONPG	Gélose Chapman	Amikacin (AK30)
Autoclave	Disques oxydase	Gélose Citrate de Simon	Cefoxitin (CX30)
Bain Marie	Eau distillée	Gélose EMB	Kanamycin (K30)
Béchers	Eau physiologique 9g/L	Gélose Mannitol Mobilité	Lincomycin (L2)
Boîtes de Pétri	Fuchsine	Gélose Muller Hinton	Pénicilline (P10)
Eprouvette	Huile d'immersion	Gélose Nutritive	Vancomycine (VA30)
Erlenmeyer	Huile de paraffine	Gélose TSI	
Etuve	Lugol	Gélose VF	
Embouts, Flacons	Peroxyde d'Hydrogène « H2O2 »	Milieu ADH	
Galerie API 20E	Réactif de Kovacs	Milieu LDC	
Galerie API STAPH	Réactif NIT1 et NIT2	Milieu ODC	
Lames, Pince	Réactif TDA		
Micropipette	Réactif VP1 et VP2		
Microscope optique	Réactif ZYM A et ZYM B		
Pipette pasteur	Violet de Gentiane		
Écouvillons stériles			
Tubes à essai			
Vortex			
Pied à Coulisse			

I. Partie microbiologique

1) Échantillonnage du lait

Dans cette étude, on a pris un total de 250 échantillons de 100 vaches souffrant de mammites subcliniques et chroniques, confirmées par les tests du laboratoire California Mastitis Test (CMT)", dont 45 échantillons de la ferme expérimentale de l'université IBN KHALDOUN et 55 échantillons de la ferme de Boukhetech "située à Rahouia Tiaret". Ces échantillons de lait ont été prélevés sur des mamelles nettoyées, en éliminant le premier lait du quartier échantillonné pour minimiser le risque de contamination de l'échantillon par les bactéries présentes à l'extrémité du trayon, puis placés dans des tubes à essai stériles. Ils ont ensuite été identifiés et transportés au laboratoire dans des glacières à 4°C pour l'analyse microbiologique (**Boufaida et al., 2012 ; Ahmed et al., 2020**).

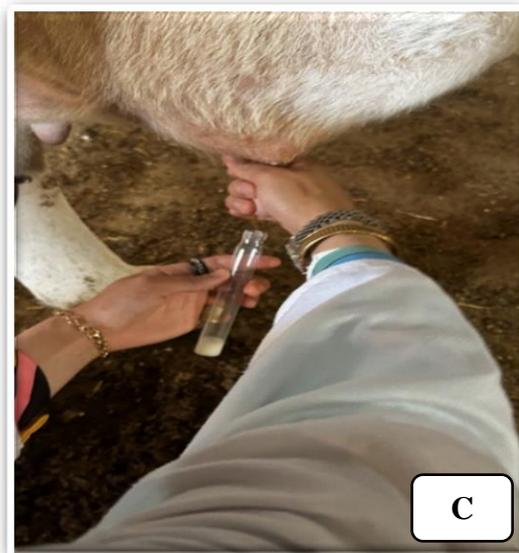
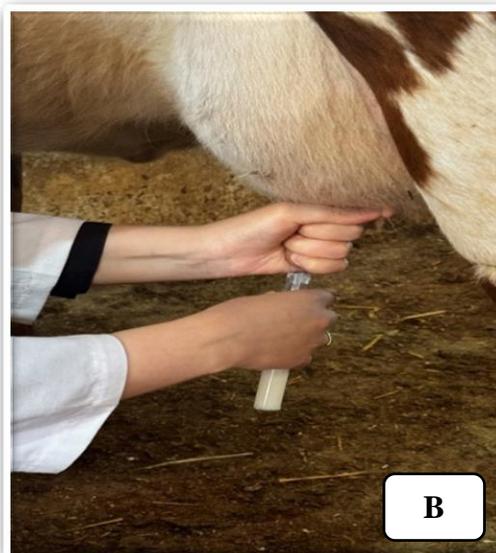


Figure N° 07 : (A) Une vache atteinte de mammite. (B) et (C) Prélèvement Du lait.

II. Recherche et isolement des bactéries Recherche et dénombrement de quelques bactéries présentes dans lait cru mamiteux

A. Préparation des dilutions

Une fois les échantillons de lait de vache mamiteux homogénéisés, nous effectuons une série de dilutions décimales jusqu'à 10^{-3} .

Pour ce faire, nous prélevons 01 ml de chaque échantillon (solution mère) et le versons dans des tubes stériles contenant 09 ml d'eau physiologique stérile (Na Cl).



Figure N° 08 : Les dilutions des échantillons du lait.

B. Ensemencement

Pour chaque échantillon, une inoculation de surface de 0,1 ml a été réalisée sur le milieu EMB pour isoler *Escherichia coli* et sur le milieu Chapman pour isoler les *staphylocoques spp.* Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.

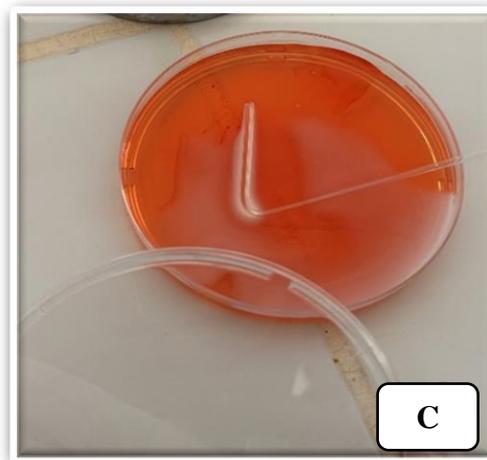
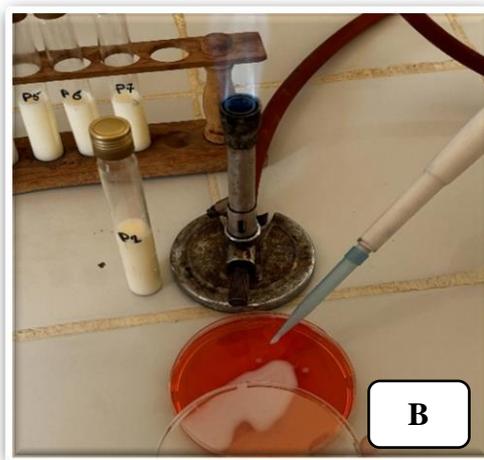


Figure N°10 : (A) Technique d'ensemencement sur surface, (B) Prélevé de l'échantillon, ensemencement de l'échantillon. (C) Étalement de l'échantillon sur la surface.

III. Recherche et isolement des Bactéries associés aux mammites

A. Recherche et isolement d'*Escherichia coli* le milieu Eosine Méthylène Blue (EMB)

Escherichia coli représente l'une des principales causes de mammité bovine ; celle-ci peut provoquer une mammité subclinique et clinique dont les manifestations comprennent des altérations structurelles, une apparence anormale du lait et une inflammation de la mamelle (Zaatout. 2022).

Les souches isolées et purifiées sont identifiées par l'observation macroscopique des colonies bactériennes obtenues, basée sur l'étude des caractéristiques morphologiques de la culture, notamment l'aspect, la couleur, la forme des colonies, etc., suivie d'une observation microscopique pour déterminer le type de paroi « Gram positif ou Gram négatif » ainsi que de tests biochimiques utilisant une galerie classique et la galerie API 20 E pour *E. coli*.

B. Recherche et isolement des bactéries de *Staphylococcus spp*

Les staphylocoques sont un groupe de plusieurs espèces qui colonisent les muqueuses et la peau de divers hôtes mammifères. Cette colonisation conduit à un développement de la mammité bovine, entraînant une réduction de la production laitière et une altération de la qualité du lait (**De los Santos et al., 2022 ; Rodríguez et al., 2023**).

L'identification des colonies cultivées sur le milieu de Chapman implique une caractérisation macroscopique, microscopique et biochimique à l'aide de tests standards.

En outre, une identification à l'aide de la galerie API Staph est constituée de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne produite dans le milieu API Staph, ce qui permet de reconstituer les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou sont révélées par l'ajout de réactifs. Ces réactions peuvent être interprétées à l'aide d'un logiciel d'identification.

IV. Caractéristiques biochimiques

a. Test ONPG

❖ Principe

Le test ONPG, également connu sous le nom de test O-nitrophényl-bêta-galactopyranoside, est utilisé en microbiologie pour identifier les bactéries capables de fermenter le lactose. Il détecte la présence de bêta-galactosidase dans les souches bactériennes. Celle-ci intervient dans la décomposition du lactose en glucose et galactose. (**Al-Thobaiti et al., 2021**).

❖ Technique

Déposer le disque ONPG dans un tube stérile contenant 2 ml de solution saline stérile. Introduire des colonies de l'isolat à tester à l'aide d'une pipette pasteur dans des tubes à essai. Ceux-ci sont incubés à 37°C pendant 2 heures. L'apparition du jaune indique la capacité de la bactérie à synthétiser la bêta-galactosidase (**Al-Thobaiti et al., 2021**).

b. Test catalase

❖ Principe

Le test de la catalase peut être utilisé pour détecter les bactéries productrices de catalase. La catalase est utilisée pour neutraliser l'effet bactéricide du peroxyde d'hydrogène, où elle accélère la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène. Cette réaction est mise en évidence par la formation rapide de bulles (**Karen, 2010**).

Le test de la catalase peut également être utilisé pour différencier les bactéries aérobies des bactéries anaérobies obligatoires, car on sait que les anaérobies sont souvent dépourvus de cette enzyme.



❖ **Technique**

À l'aide de la pipette Pasteur, déposer une goutte de H_2O_2 sur la lame propre.

1. Utiliser une anse stérile pour placer des colonies bien isolées sur la goutte de H_2O_2 .
2. L'observation de la formation de bulles sur un fond sombre indique un résultat positif. (Karen, 2010).

c. Test oxydase

❖ **Principe**

Le test de l'oxydase est conçu spécifiquement pour détecter la mise en évidence de l'enzyme terminale de la respiration aérobie, connue sous le nom de cytochrome C oxydase. La cytochrome C oxydase est le dernier accepteur d'électrons H_2 dans le mécanisme respiratoire aérobie. Composée de multiples enzymes qui effectuent alternativement des réactions d'oxydation et de réduction, elle donne ou reçoit des électrons de H_2 . Ce réactif agit comme un substrat artificiel pour fournir des électrons à l'oxydation. En présence d'oxydase et d' O_2 libre, il apparaît comme un composé violet foncé. Une réaction positive est indiquée par l'apparition d'une couleur violet foncé après avoir frotté le corps sur le disque d'oxydase contenant le réactif (Delarras, 2014; Shields et al., 2016).

❖ **Technique**

1. Tremper un disque d'oxydase commerciale dans une goutte d'eau distillée sur une lame, y déposer des colonies à l'aide d'une pipette Pasteur et frotter dans le disque.
2. Observer immédiatement, ou après quelques secondes, une coloration violet foncé sur le disque, ce qui indique un résultat positif.

a. Triple Sugar Iron (TSI)

❖ Principe

On utilise la gélose triple sucre-fer (TSI) pour différencier les micro-organismes à la base de la fermentation et de la production de glucose, de lactose et/ou de saccharose Sulfure d'hydrogène et gaz (Tabak *et al.*, 2012 ; Denis *et al.*, 2016).

❖ Lecture du test TSI

-Fermentation de glucose

- Culot rouge : glucose non fermenté.
- Culot jaune : glucose fermenté.

-Fermentation du lactose

- Pente inclinée rouge : lactose non fermenté.
- Pente inclinée jaune : lactoses fermentés.

-Production de gaz : Apparition de gaz dans le culot.

-Formation d'H₂S : Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piquère

d. Urée-indole

Le milieu urée-indole est un milieu capable d'obtenir une gamme de résultats utiles.

❖ Technique

Cette technique comprend trois étapes :

1. A partir d'une culture pure, ensemercer le milieu urée-indole avec des colonies.
2. Utilisation d'une anse de platine stérile pour la culture bactérienne, suivie d'une culture à 37°C pendant 24 heures. Lecture directe de l'uréase, enzyme qui hydrolyse l'urée, l'alcalinisation du milieu produit une couleur rouge.
3. Après lecture de l'urée, l'indole est lu sur le même tube.

Si l'espèce bactérienne est indole positive, la formation d'une couleur rose à rouge (anneau rouge cerise) est indiquée ; si l'indole est négatif, la couche de réactif reste jaune.

4. La présence de tryptophane désaminase (TDA) est renforcée par l'ajout de Haute teneur en chlorure ferrique, qui fait virer le milieu au brun rougeâtre lors de la réaction

Positif (Boussena, 2020).

e. Mannitol Mobilité

❖ **Principe**

Ce milieu est utilisé pour étudier deux propriétés biochimiques (fermentation du mannitol) et la motilité de la souche. En effet, l'utilisation du mannitol acidifie l'environnement, ce qui peut être révélé par le passage de l'indicateur de pH à une couleur acide (jaune) (**Baron.2013**).

❖ **Technique**

1. La technique d'inoculation a été réalisée par une piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur.
2. Incuber les tubes pendant 24 heures à 37°C. L'utilisation du mannitol peut être lue grâce à la présence de l'indicateur de pH rouge de phénol.

f. Citrate de Simmons

❖ **Principe**

Le test au citrate est conçu pour détecter si les bactéries sont capables d'utiliser le citrate comme source de carbone, ce qui entraîne une augmentation du pH du milieu ainsi qu'un changement de couleur du vert au bleu (**Triadi et al., 2022**).

❖ **Technique**

Inoculation de la souche bactérienne sur le milieu citrate de Simmons par stries de surface, suivie d'une incubation des tubes à 37°C pendant 24 heures. Le passage du vert vers le bleu indique un résultat positif (**Boussena, 2020**).

g. Dégradation des acides aminés : LDC et ODC

Les enzymes décarboxylases (LDC, ODC) dégradent les acides aminés en formant les amines correspondantes et en libérant du CO₂. Chez les bactéries métaboliques, la fermentation du glucose provoque une baisse du pH suffisante pour favoriser la synthèse des enzymes, l'alcalinité produite par l'amine fait virer l'indicateur au violet après une brève phase de jaunissement. Si la bactérie ne possède pas d'enzyme décarboxylase, le milieu restera acide et donc jaune (**Delarras, 2007**).

❖ **Technique**

Le test est réalisé en ensemençant des colonies bactériennes dans un bouillon « LDC ou ODC » à l'aide d'un anneau de platine stérile, puis en incubant à 37°C pendant 24 heures.

h. Test de coagulase

❖ Principe

Le test de la coagulase permet de déterminer si la coagulase est présente. Cette enzyme est à l'origine de la coagulation du plasma sanguin.

❖ Technique

Il consiste à ajouter 0,5 ml de plasma de lapin dans un tube à essai, puis à ensemencer avec quelques colonies bactériennes bien isolé et à incuber à 37 °C pendant 24 heures.

❖ Lecture

La formation d'un caillot, quel qu'en soit le type ou le degré, indique que le test est positif (Rubin et al., 2010 ; Ogado et al., 2022).

a) Les galeries API

i. Identification d'*Escherichia coli* par la galerie Api 20 E

La galerie API 20 E est un outil d'identification des bactéries. Elle se compose de 20 tubes remplis d'une suspension bactérienne standardisée et de milieux déshydratés pour différents tests biochimiques. Chaque tube contient un substrat spécifique pour un type de réaction : ONPG, ADH, ODC, LDC, citrate de Simmons (CIT), production d'hydrogène sulfuré par réduction de thiosulfate (H₂S), synthèse d'une uréase (URE), recherche de la tryptophane désaminase (TDA), recherche du pouvoir indologène (IND), production de l'acétone « vogue proskauer » (VP), gélatinase (GEL), recherche des glucides : glucose (GLU), arabinose (ARA), mannose (MAN), inositol (INO), Sorbitole (SOR), Mannose (RHA), saccharose (SAC), mélioïdose (MEL), amygdaline (AMY). Ces tubes sont ensuite remplis d'une suspension bactérienne standardisée à l'échelle de 0,5 Mc Ferland.

A la fin du test, les résultats se traduisent par des changements de couleur dans les tubes, soit spontanément, soit après l'ajout de réactifs.

ii. Identification des *Staphylococcus* par la galerie Api staph permet d'effectuer les tests suivants

(GLU) D-glucose, (FRU) D-fructose, (MNE) D-mannose, (MAL) D-maltose, (LAC) D-lactose, (TRE) D-tréhalose, (MAN) D-mannitol, (XLT) xylitol, (MEL) D-mélibiose, (NIT) nitrate de potassium, (PAL) β-naphtyl phosphate, (VP) sodium pyruvate, (RAF) D-raffinose, (XYL) D-xylose, (SAC) D-saccharose, (MDG) méthyl-αD glucopyranoside, (NAG) N-acétyl-glucosamine, (ADH) L-arginine, (URE) urée.

V. Antibiogramme

La technique de diffusion sur disque est la plus utilisée pour évaluer la sensibilité aux antibiotiques **Qomariyah et al. (2021)**. Les antibiotiques utilisés : Vancomycine Va(30µg) ; Pénicilline P(10µg) ; Kanamycine K(30µg) ; Lincomycin L(2µg) ; Amikacine Ak(30µg) ; Cefoxitin Cx(30µg).

La méthode de diffusion sur disque comprend les étapes suivantes :

1. Des boîtes de Petri stériles sont remplies d'agar Mueller-Hinton liquéfié et on les laisse se solidifier.
2. L'inoculum bactérien est préparé à partir de souches âgées de 18 à 24 heures, normalisées à 0,5 Mac Ferland. Il est ensuite étalé sur la surface de la gélose solidifiée à l'aide d'un écouvillon stérile.
3. Poser les disques antibiotiques sur le tapis bactérien à l'aide d'une pince stérile.
4. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures.
5. Les résultats sont exprimés en mesurant la zone d'inhibition (mm) à l'aide d'un pied à coulisse (**Triadi et al., 2022**).

Résultats

et

Discussions

Résultats et discussion

I. Isolement et Identification des bactéries liée aux mammites

A. Isolement

La mammite est une inflammation du sein, généralement causée par une infection bactérienne. Elle se manifeste par des symptômes tels qu'un gonflement des seins, des douleurs, des rougeurs et des modifications de la qualité du lait (y compris la présence de pus ou de sang). Cette pathologie est fréquente chez les vaches laitières et peut avoir un impact important sur la production laitière et la santé de l'animal (Blowey *et al.*,2010).

D'après nos résultats, nous avons constaté que parmi les 100 échantillons de lait issus des vaches mamiteux, 66 échantillons sont contaminés par entérobactéries et Staphylocoques avec un pourcentage de 24.42% et 19.14%, respectivement.

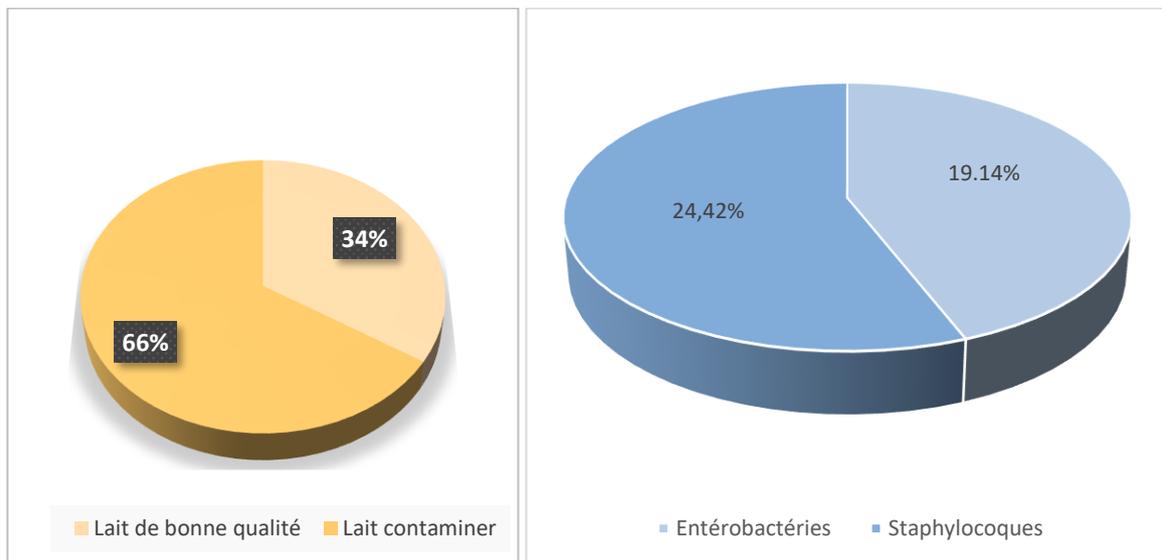


Figure N° 11 : Présence des entérobactéries et Staphylocoques dans l'échantillon d'étude

B. Identification

a. Étude morphologique

1. Examen macroscopique et microscopique

L'examen macroscopique des colonies cultivées sur le milieu EMB a révélé un aspect vert métallique brillant caractéristique autour des colonies, dû à une fermentation rapide du lactose. En outre, les bactéries cultivées sur le milieu Chapman présentaient des colonies jaunes dues à la fermentation du mannitol.

Tableau N°02 : caractères morphologie des souches isolées.

Milieux de cultures	Aspects microscopiques	Aspects macroscopiques	
EMB	Coccobacilles à Gram négatif	Colonies violettes semi bombées avec éclats métallique verdâtres.	
Chapman	Cocci en amas à Gram positif	Colonies arrondi régulière bombé dorré.	

D'autre part, l'examen microscopique des bactéries par coloration de Gram a montré que les bactéries présentes dans le milieu EMB sont des coccobacilles à Gram négatif et que celles cultivées sur le milieu de Chapman sont des Cocci en amas à Gram positif.

Tableau N°02 : Caractères biochimique des souches obtenues.

Tests \ Cultures	Cat	Oxy	ONPG	LDC	ODC	ADH	Sch	TSI	Man	Urée	Ind	VF	Coa	Cit
EMB	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
Chapman	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+

(+): Test positive, (-): Test negative.

Concernant les tests biochimiques effectués sur les bactéries : catalase, oxydase, ONPG, TSI, indole, coagulase, urée, mobilité du mannitol, Vf, ADH, LDC et ODC) après une culture de 18h sur les milieux de culture (EMB, Chapman) (**Tableau N°02**).

Culture sur EMB

Selon les résultats de l'identification, les bactéries qui se développent dans le milieu EMB sont des coccobacilles Gram-négatifs (**Figure N°12**), de type respiratoire aéro-anaérobie facultatif, mobile, possèdent les enzymes catalase, β -galactosidase (ONPG), Lysine décarboxylase (LDC), l'Ornithine décarboxylase (ODC) et l'indole. Au même temps sont dépourvues de l'Uréase (URE) et TDA et sont incapables de synthétiser l' H_2S et elles n'utilisent pas le citrate comme unique source de carbone. Ces résultats indiquent que la bactérie isolée sur EMB est *E. coli*.

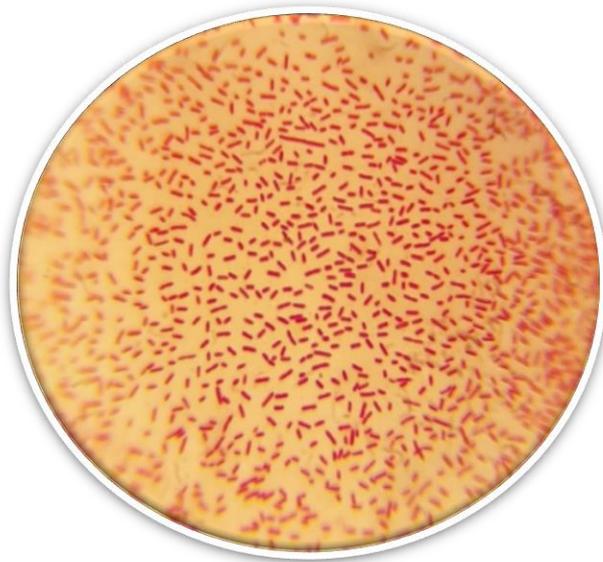


Figure N°12 : Observation microscopique d'*E. coli* après coloration de Gram

Ces résultats d'identification de *E. coli* sont confirmés par les résultats de la galerie **Api 20E** après un traitement à l'aide d'un logiciel d'identification "api web" (<http://apiweb.biomerieux.com>)

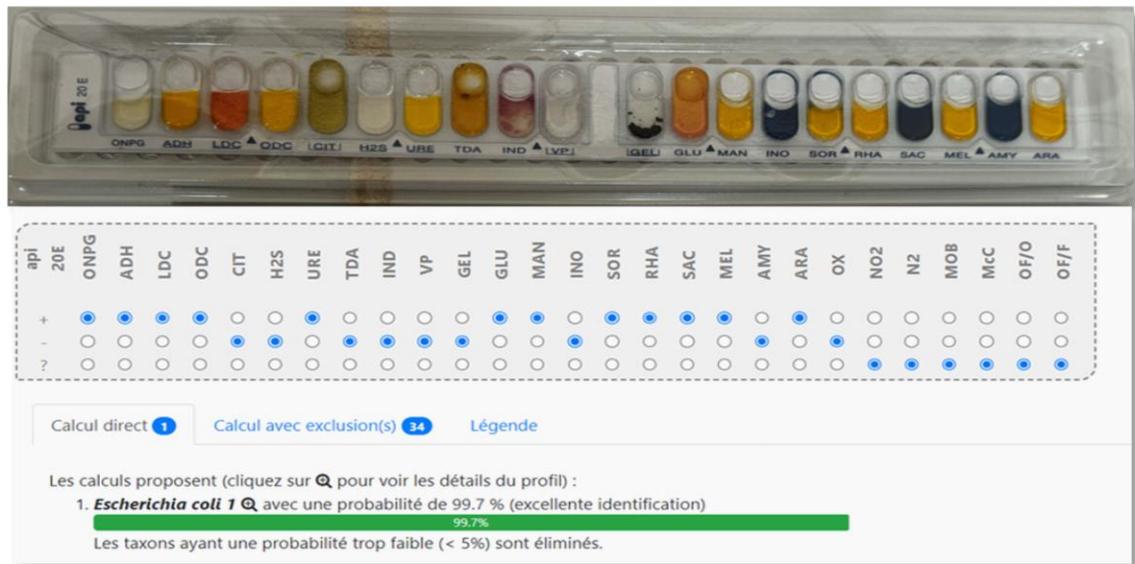


Figure N°13 : Résultat de l'identification dans la galerie Api 20E.

Ces résultats sont aussi cohérents avec ceux de **Basavaraju et Gunashree (2022)**, qui soulignent que *E. coli* appartient à la famille des Enterobacteriaceae et qu'elle a une forme de coccobacille à Gram négatif, avec catalase positive, mobile et aéro-anaérobie facultative.

En plus, la plupart des études révélèrent que les colonies d'*E. coli* ont un aspect vert métallique dans le milieu EMB en raison de la fermentation du lactose, qui provoque une acidification accrue du milieu. Celle-ci précipite le bleu de méthylène dans le milieu EMB (**Triadi et al., 2022**).

Culture sur Chapman

En revanche, toutes les bactéries identifiées dans le milieu de Chapman sont à Gram positif et se présentent sous la forme de Cocci en amas « grappe de raisin » (**Figure N°14**). D'après nos résultats, des tests classiques et la galerie Api STAPH (**Tableau N°02 (Annex N°I) ; Figure N° 15**) nous avons constaté que la souche obtenue correspond à *Staphylococcus xylosus* (**Gnanamani et al., 2017 ; Wang et al., 2017**) ; (<http://apiweb.biomerieux.com>).

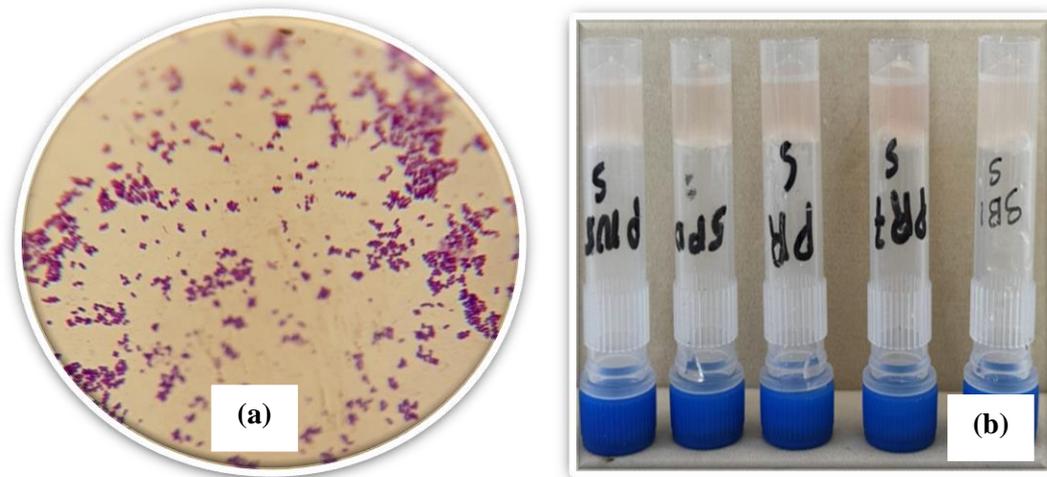


Figure N°14 : (a) Observation microscopique après coloration de Gram. (b) test à la coagulase de *Staphylococcus spp.*

Ces résultats sont en accord avec plusieurs études révélant que les souches de staphylocoques appartiennent à la famille des Micrococcaceae. En effet, ces bactéries sont des Cocci à Gram positif dotées de catalase, qui forment des amas irréguliers lorsqu'elles sont observées au microscope (**Chen et al., 2022 ; Battaglia et Garrett Sinha, 2023**).

Nos résultats sont en concordance avec les études de **Abou-Elela et al. (2010)**, qui montrent que *S. xylosus* est une bactérie à une forme Cocci avec la présence de catalase, uréase, B-galactosidase, et capables de dégrader le mannitol et divers sucres dont galactose, le glucose, le maltose, le fructose, le saccharose et le mannose, mais elles sont dépourvues d'oxydase et de coagulase.

Les résultats d'identification biochimique par la galerie Api staph sont mentionner dans le (**Tableau N° 05**) :

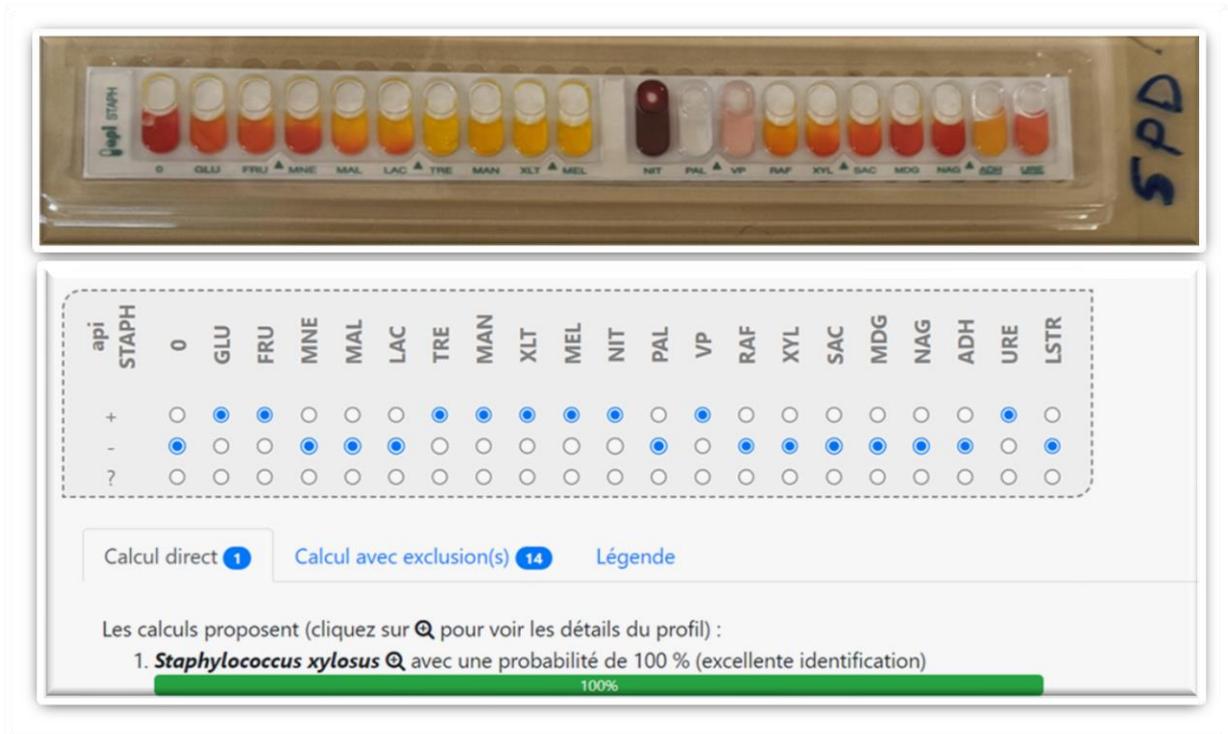


Figure N° 15 : Résultats de la galerie API STAPH.

VI. Etude de la sensibilité des souches

A. Antibiogramme

Les résultats d'antibiogramme de souches isolées sont illustrés dans les histogrammes suivants :

Pour *S. xylosum*

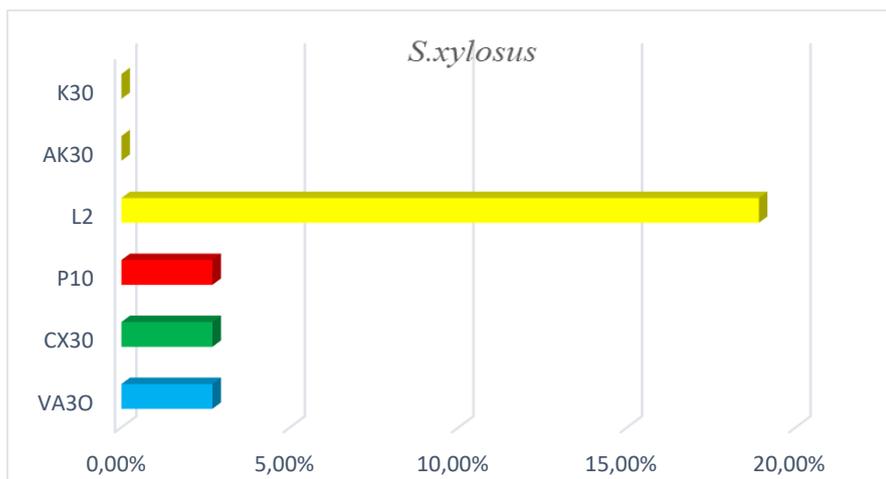


Figure N°16 : La moyenne de la résistance bactérienne de la souche *S. xylosum* aux antibiotiques.

Parmi 37 souches de isolées du lait cru mamiteux nous avons constaté que certaines souches développent une résistance vers différents antibiotiques, dont : 2.7% de nos souches présentent une résistance contre le Vancomycine (Va30), Cefoxitin (Cx30) et Pénicilline (P10) et pour Lincomycin (L2), 7 souches présentent une résistance vis-à-vis cet antibiotique avec un taux de 18.91%.

Alors que pour les deux autres antibiotiques (Amikacine (Ak30) et Kanamycine (K30)), toutes les souches sont sensibles.

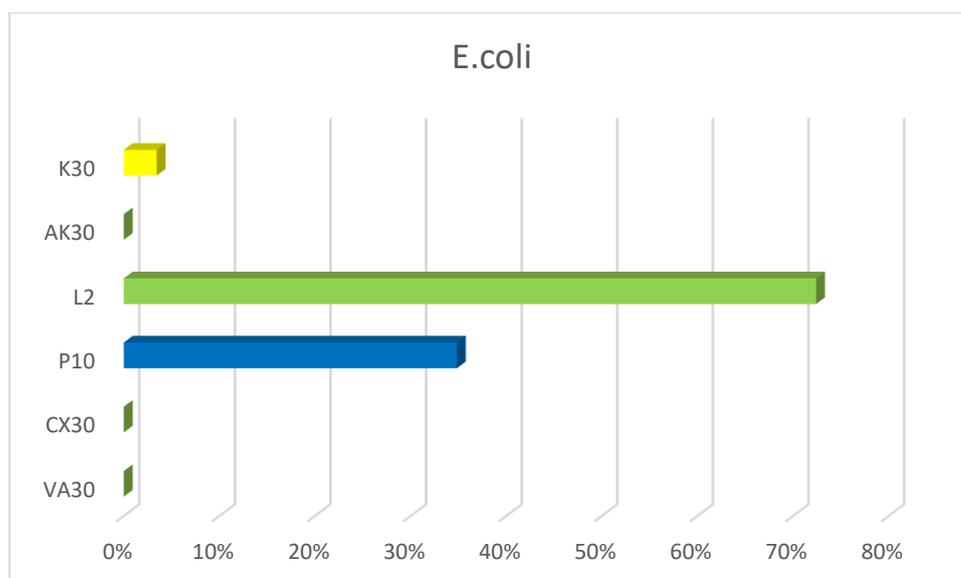


Figure N°17 : La moyenne de la résistance bactérienne de la souche *E. coli* aux antibiotiques.

L2 : Lincomycin ; **CX30 :** Cefoxitin ; **VA30 :** Vancomycine ;

K30 : Kanamycine ; **AK30 :** Amikacine ; **P10 :** Pénicilline.

Concernant les 29 souches d'*Escherichia coli* isolées du lait cru mamiteux, nous avons enregistré une émergence de résistance de certaines bactéries vis-à-vis les antibiotiques testés : 34.84% de nos souches d'*E. coli* sont résistantes au Pénicilline (P10), 72.41% sont résistantes au Lincomycin (L2) et 3.44% sont résistantes au Kanamycine (K30).

Nous avons constaté que nos souches sont sensibles aux Vancomycine (Va30), Cefoxitin (Cx30) et Amikacine (Ak30).



Figure N°19 : Résultat de réaction d'antibiotique sur la souche *Staph* et de la souche *E. coli*

Selon une étude clinique de **Abdoulaye et al., 2022**, ils ont trouvé que dans un nombre de 31 souches d'*Escherichia coli*, 12 souches sont résistantes à l'antibiotique Cefoxitin (Cx30), alors que parmi 10 souches de *staphylococcus spp*, 4 souches développent une résistance contre la Cefoxitin (Cx30), ainsi que pour l'Amikacine (Ak30), 14 souches d'*Escherichia coli* ont été résistantes, alors que 3 souches de *staphylococcus spp* développent une résistance vis-à-vis le Kanamycine.

Zafindrasoa et al. (2017) font une étude clinique sur l'antibiorésistance d'*Escherichia coli*, leurs résultats montrent que dans un nombre de 102 souches isolées, 51 souches sont résistantes aux Bêtalactamine avec un taux de 50% (avec un taux de 5.9% vis-à-vis Pénicilline), alors que 58 souches ont développé une résistance aux Aminosides avec un taux de 56.9%.

El Bouamri et al. (2014) ont trouvé que dans un effectif de 924 souches d'*Escherichia coli* isolée pour une étude de la résistance bactérienne contre les antibiotiques, 65% des souches ont été résistantes de l'amoxicilline et 8% des souches ont été résistantes de l'Amikacine (Ak30).

En 2022, **Nguyen et al.** Déclarent que parmi 271 souches d'*Escherichia coli* isolée à partir d'un milieu hospitalier, 96.7% des souches présentent une résistance contre les antibiotiques de la famille bêtalactamine et 0.7% des souches sont résistantes à l'Amikacine (Ak30).

Selon Pierre et al. (2007), sur un échantillon de 662 souches isolées, 44,7 % devenues résistantes à au minimum un antibiotique testé. Le taux de résistance à au moins deux antibiotiques est 36,9 %, ce qui signifie que juste 7,8 % des souches étaient résistantes à un seul antibiotique.

En 2023, Christian et al. ont trouvé que parmi 98 souches de *staphylococcus spp*, les souches développent une résistance contre la Pénicilline, l'Amoxicilline et la vancomycine avec des taux différents (82%, 74% et 13%, respectivement).

Les mécanismes de l'antibiorésistance sont variés. Les principaux permettent à la bactérie d'expulser l'antibiotique ou d'empêcher son entrée, de le dégrader ou le modifier afin de le rendre inactif, de le déloger ou de modifier la machinerie cible afin de l'empêcher d'agir (**Duval et Cossart, 2019**).

La vancomycine fait partie des antibiotiques glycopeptidiques. Elle cible les précurseurs du peptidoglycane, alors que ce système est crucial pour la biosynthèse de la paroi cellulaire des entérocoques. En se liant à ces précurseurs et en empêchant la transglycosylation et la transpeptidation, la vancomycine empêche la construction et la croissance de la paroi cellulaire bactérienne. La caractéristique commune de ces systèmes est de modifier la voie de biosynthèse du peptidoglycane avec différentes molécules, de sorte que la vancomycine ne peut pas identifier la molécule et ne peut donc pas interférer (**Cebeci et Kırmusaoglu, 2020**).

Alors que les bêtalactamines (Cefoxitin et Pénicilline) se fixent aux protéines de liaison des pénicillines (PLP) et arrêtent la production de peptidoglycane, un élément clé de la paroi bactérienne. Les bactéries transpeptidases et carboxypeptidases, qui jouent un rôle essentiel dans la synthèse du peptidoglycane, vont identifier le cycle bêta-lactame qui va rivaliser avec leur substrat naturel, le dipeptide d'alanine et l'insertion des PLP se fait à la surface externe de la membrane cytoplasmique (**Bush, 2016**).

Concernant les aminosides, les substances traversent la paroi et entrent dans la membrane grâce à un processus de transport qui nécessite de l'oxygène. Dans la bactérie, les aminosides (Amikacine et Kanamycine) se fixent aux ribosomes afin de perturber la production de protéines (**Lutz et al., 2018**).

Selon **Stahl (2017)**, les bactéries peuvent présenter une résistance croisée à la Lincomycine. La régulation du mécanisme d'efflux actif est assurée par des gènes MEF.

(Phénotype M, résistance aux macrolides et apparentés à chaîne en C14 ou C15) et la résistance MLSb (modification de la cible ribosomale) est régulée par les gènes ERM.

Conclusion

Conclusion

Les mammites sont une inflammation des quartiers mammaires chez les vaches laitières. C'est l'une des pathologies les plus fréquentes et coûteuses en production laitière, représentent un enjeu sanitaire et économique majeur pour les éleveurs et l'état. Leur traitement repose principalement sur l'utilisation d'antibiotiques. Ces derniers massivement utilisés sont parfois inadaptés avec le germe causal de l'infection ce qui conduit à l'émergence inquiétante de souches bactériennes résistantes. Ces bactéries, devenues insensibles aux antibiotiques, sont alors beaucoup plus difficiles à éradiquer, entraînant des mammites persistantes et sévères. Le phénomène de résistance bactérienne entrave ainsi l'efficacité des traitements classiques contre les mammites. Il menace non seulement la santé des troupeaux laitiers mais également la santé publique.

Les objectifs de notre étude sont l'identification et la caractérisation des bactéries pathogènes liées à la mammité (*Escherichia coli* et *Staphylococcus spp*), puis l'évaluation du profil de sensibilité des bactéries isolées vis-à-vis d'une gamme d'antibiotiques couramment utilisés dans le traitement des mammites.

Les résultats de notre travail ont permis d'identifier deux principales bactéries responsables des mammites, *E. coli* et *S. xylosus*, L'identification par tests biochimiques, morphologiques et galeries API a permis de confirmer et de mettre en évidence leur profil de résistance croissante à divers antibiotiques.

Les souches d'*E. coli* ont manifesté une forte résistance à la Lincomycin, une résistance modérée vers la pénicilline et faible à la Kanamycine et pour les autres antibiotiques aucune résistance n'a été notée (Vancomycine, Cefoxitin et de l'Amikacine).

De manière encore plus préoccupante, certaines souches de *S. xylosus* manifestent une résistance aux antibiotiques de derniers recours comme la Vancomycine, la Cefoxitin et la Pénicilline, ainsi qu'à la Lincomycin et pour Amikacine et Kanamycine toutes les souches sont sensibles.

Ces résistances s'expliquent par divers mécanismes moléculaires mis en place par les bactéries pour se protéger des antibiotiques. Face aux bêta-lactamines comme les pénicillines, elles synthétisent des bêta-lactamases qui dégradent le cycle bêta-lactame de l'antibiotique. Pour la vancomycine, elles modifient les précurseurs du peptidoglycane de la paroi cellulaire, empêchant ainsi la fixation de l'antibiotique.

La résistance aux aminosides comme la kanamycine implique souvent la production d'enzymes modifiant la structure de l'antibiotique ou l'expulsion active de celui-ci par des

Conclusion

pompes à efflux. Enfin, pour les macrolides tels que la Lincomycin, des modifications au niveau des ribosomes cibles ou des systèmes d'efflux membranaires diminuent l'efficacité de ces molécules.

L'émergence rapide de ces multiples mécanismes de résistance représente une menace sanitaire majeure. La dissémination de ces pathogènes polymorphes dans la chaîne alimentaire pourrait conduire à des infections animales et humaines incontrôlables en l'absence de nouveaux agents antimicrobiens efficaces. Des mesures urgentes de contrôle de l'utilisation des antibiotiques en élevage et de surveillance de l'antibiorésistance s'imposent pour préserver notre capacité à combattre ces fléaux émergents.

*Références
Bibliographiques*



- ❖ **Aarestrup M. (2005).** Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 96(4).271-281.
- ❖ **Abdoulaye O., Sidi Maman B., Hama A., Abdoulaye I., Abdoulaye M., Yacouba A., Chaibou S., Alhousseini D., Biraima A., Harouna A., Doutchi M., Bako S., Maman F., Moussa M., Mamadou S. (2022).** Profile of multidrug-resistant clinical bacterial isolates at the National Hospital of Zinder (NHZ). *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*. 23(4) :369-377. DOI:10.4314/ajcem.v23i4.5
- ❖ **Abou-Elela S.I., Kamel M.M., Fawzy M.E. (2010).** Biological treatment of saline wastewater using a salt-tolerant microorganism. *Researchgate*. DOI:10.1016/j.desal.2009.03.022.
- ❖ **Ahmed W., Neubauer H., Tomaso H., El Hofy F.I., Monecke S., Abdeltawab A.A., Hotzel H. (2020).** Characterization of Staphylococci and Streptococci Isolated from Milk of Bovides with Mastitis in Egypt. *Pathogens*,15;9(5):381. Doi: 10.3390/9050381/32429272.
- ❖ **Allen H. K., Donato J., Wang H. H., Cloud-Hansen K. A., Davies J., Handelman J. (2010).** Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews Microbiology*. 8(4), 251-259.
- ❖ **Alloysius C.O., Dawn I.A., Morumda D., Rufus E.A. (2022).** Microbial techniques and methods: basic techniques and microscopy, *Analytical Techniques in Biosciences, Academic Press*, 201-220. (13).
- ❖ **Al-Thobaiti B.M., Abada E., El-Gayar K. (2021).** Biochemical and molecular characterization of proteolytic bacterial strains isolated from Jazan region, KSA with the application as an antibacterial agent. *Modern Journal of Microbial Biology*. 3(1),1-17.
- ❖ **Amna A., Alexandra B., Dirk H., Gerard D. (2024).** Antibiotic resistance: A key microbial survival mechanism that threatens public health. *Journal home page for Cell Host & Microbe*.32(6) :837-851. Doi :1012.05.015



- ❖ **Barkema H. W., Green M. J., Bradley A. J., Zadoks R. N. (2020).** The role of contagious disease in udder health. *Frontiers in Veterinary Science*. 7, 450.

- ❖ **Baron E.J. (2013).** Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 13th Edition. *Cengage Learning*.
- ❖ **Basavaraju M., Gunashree B.S. (2022).** Escherichia coli: An Overview of Main Characteristics. *intechopen*. DOI: 10.5772/intechopen.105508.
- ❖ **Battaglia M., Garrett-Sinha L.A. (2023).** Staphylococcus xylosus and Staphylococcus aureus as commensals and pathogens on murine skin. 39(18).
- ❖ **Blowey R., Edmondson, P. (2010).** Mastitis Control in Dairy Herds. 2nd ed. CABI.
- ❖ **Bouaziz O. (2020).** Etude générale des mammites des vaches laitières, cours pathologie de la reproduction.
- ❖ **Boussena S. (2020).** Manuel des Travaux Pratiques de Bactériologie. Institut des Sciences Vétérinaires, Département de Productions Animales. Université Biskra.
- ❖ **Bush K., Bradford P. A. (2016).** β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 6(8), a025247.
- ❖ **Boufaïda A., Butel M.J., Ouzrout R. (2012).** Prévalence des principales bactéries responsables de mammites subcliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. 1 65 (1-2) :5-9.

C

- ❖ **Cebeci A., Kirmusaoglu S. (2020).** Introductory Chapter: An Overview of the Genus Staphylococcus and Streptococcus. *Intechopen*. DOI: 10.5772/intechopen.90798.
- ❖ **Chen J.J., Ming-Jen C., Tzong-Huei L., Yueh-Hsiung K., Chao-Tsen L. (2022).** Secondary Metabolites with Anti-Inflammatory from the Roots of Cimicifuga taiwanensis. *Molecules*. Pubmed. 27.1657 DOI: 10.3390/molecules27186035.
- ❖ **Christian K., Chibuzor N., Marie E., Stephen C. (2023).** A meta-analysis on the prevalence of resistance of Staphylococcus aureus to different antibiotics in Nigeria, *PubMed*. DOI: [10.1186/s13756-023-01243-x](https://doi.org/10.1186/s13756-023-01243-x).
- ❖ **Collignon P., Powers, J. H., Chiller T. M. (2009).** Antimicrobial resistance: the major contribution of poor governance and corruption to this growing problem. *PLoS medicine*, 6(3).
- ❖ **Cheng W.N., Han S.G. (2020).** Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments. *Asian-Australas J Anim Sci*. 33(11):1699-1713. doi: 10.5713/ajas.20.0156.

D

- ❖ **Delarras C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire. *Lavoisier*. 476.
- ❖ **Delarras C. (2014).** Pratique En Microbiologie De Laboratoire. Edition Céline Poiteaux. *Lavoisier Paris*, 476,268,579.211
- ❖ **De los Santos R, González-R.Á., Majul L., Aldrovandi A., Gil Andrés, Hirigoyen Darío, Zunino Pablo. (2022).** Subclinical bovine mastitis associated with *Staphylococcus* spp. in eleven Uruguayan dairy farms. *J Infect Dev Ctries*, 16(4):630-637. doi:10.3855/jidc.12960
- ❖ **Denis F., Vincent C., Christian M., Marie-Cécile P. (2016).** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. *Elservier Masson SAS*, 29.

E

- ❖ **El bouamri M.C., Arsalane L., Kamouni Y., Yahyaoui H., Bennouar N., Berraha M., Zouhair S. (2014).** Current antibiotic resistance profile of uropathogenic *Escherichia coli* strains and therapeutic consequences. *Progrès en Urologie*. 14(16) :1058-1062. DOI : 10.1016/j.purol.2014.09.035
- ❖ **Elsevier L. (2022).** Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Science Direct*.399, 10325, 629-655. Doi : [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724)
- ❖ **Elbehiry A., Marzouk E., Moussa I.M., Alenzi A., Al-Maary K., Mubarak A.S., Alshammari H.S., Al-Sarar D., Alsubki A., Hemeg H.A., Kabli S.A., Attala O.A (2021).** Multidrug-resistant *Escherichia coli* in Raw Milk: Molecular Characterization and the potential impact of camel's Urine as an Antibacterial Agent. *Pubmed*. DOI : 10.1016/j.sjbs.2021.01.018.

F

- ❖ **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2022).** Mastitis is an infection of the udder, most commonly caused by bacteria. It is the costliest disease for dairy producers and can significantly reduce milk production and quality.
- ❖ **Fox L.K. (2009).** Prevalence, incidence, and risk factors of heifer mastitis. *Veterinary Microbiology*, 134(1-2), 82-88.
- ❖ **Fox L.K. (2012).** Mycoplasma mastitis: Causes, transmission, and control. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 28(2), 225–237.

G

- ❖ **Gnanamani A., Periasamy H., Maneesh P.S. (2017).** Staphylococcus aureus: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. Intechopen. DOI: 10.5772/67338.
- ❖ **Guiraud J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Technique et ingénierie. Série Agro-alimentaire, Eds. *Dunod Paris*.294.

H

- ❖ **Halasa T., Nielen M., De Roos A. P., Van Hoorne R., De Jong G., Lam T. J., Van Werven T. (2009).** Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model. *Journal of Dairy Science*. 92(2), 599-606.
- ❖ **Hogan J., González R., Harmon R., Nickerson S. (1999).** Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: Prevalence and effects on somatic cell count and milk production. *Journal of Dairy Science*, 82(12), 2586-2592.
- ❖ **Hogan J., Smith K.L. (2003).** Coliform mastitis. *Veterinary Research*, 34(5), 507-519.
- ❖ **Hogeveen H., Huijps K., Lam T. J. (2011).** Economic aspects of mastitis: new developments. *New Zealand Veterinary Journal*, 59(1), 16-23.
- ❖ **Hajna A. A. (1945).** Triple-Sugar Iron Agar Medium for The Identification Of The Intestinal Group Of Bacteria. *Bacteriology*. 516-517.

I

- ❖ **Ijaz U.H., Mustafa K., Ayman A.S., Shehryar K., Patricio R., Tahir U. (2024).** Alarming multidrug resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk of cows with subclinical mastitis: Antibiotic resistance patterns and occurrence of selected resistance genes. *Pubmed*. doi: 10.1371/journal.pone.0301200

J

- ❖ **Jingru L., Xuan H., Guo M. (2022).** Antimicrobial activities and mechanisms of extract and components of herbs in East Asia. *RSC Advances*. DOI: 10.1039/d2ra02389j

K

- ❖ **Karen R. (2010).** Catalase Test Protocol. *American Society for Microbiology*. 1213 (1). 1-4.
- ❖ **Keane O. M., Kerr D. E. (2012).** Bovine Mammary Gland Infection: Using NGS to Explore the Microbial Landscape. In R. J. Watson (Ed.), *Microbiology of the Mammary Gland* (107–126). Springer. doi:10.1007/978-94-007-4579-7_5.
- ❖ **Keefe G. P. (2017).** Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis in dairy cows. *Veterinary Clinics : Food Animal Practice*. 33(1), 145-165.
- ❖ **Kuljinder K., Surinder S., Rajwinder K. (2024)** Impact of antibiotic usage in food-producing animals on food safety and possible antibiotic alternatives. *Science Direct*. doi:10.1016/100097
- ❖ **Kerro D.O. Vidlund J. (2024).** Staphylococcal mastitis in dairy cows. *Frontiers in Veterinary Science*. 11:1356259. doi: 10.3389/fvets.2024.1356259
- ❖ **Khanal S., Boonyayatra S., Awaiwanont N. (2022).** Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy farms: A systematic review and meta-analysis. *Pubmed*. DOI: 10.3389/fvets.2022.947154.

L

- ❖ **Leitner G., Krifucks O., Merin U. (2018).** Factors Affecting Milk Somatic Cell Count in Israeli Dairy Herds. *Journal of Dairy Science*, 101(6), 5553–5565. doi:10.3168/jds.2017-13688.
- ❖ **Lorian V.M.D. (2005).** Antibiotics in laboratory medicine. Lippincottwilliams Wilkins 530 Walnut Street. 10
- ❖ **Lutz L., Pereira D. A., Paiva R. M., Zavascki A. P. (2018).** Polymyxin B with rifampin and sulfamethoxazole/trimethoprim for pan-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: How do we decide. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 22(6), 498-502.

M

- ❖ **Marechal C., Thiéry R., Vautor E., Le Loir Y. (2011).** Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products a review. *Dairy Sci Technol*. 91(3). 247-282.
- ❖ **Marinho C. M., Dos Santos T. F., Gonçalves J. L., Martins M. T., Cost, M. M., Souza M. R., Dos Santos A. S. (2019).** Antibiotic resistance and virulence factors in *Enterococcus* isolated from traditional fermented meat products. *Microbial pathogenesis*. 132, 45-51.
- ❖ **Martinez J. L. (2012).** Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science*, 321(5887), 365-367.
- ❖ **Mérodie D., Pascale C. (2019).** Un nouveau mécanisme de résistance aux antibiotiques. *Medecinescience*, 35(8-9), 613-615.
- ❖ **Moreno M. A. (2014).** Survey of quantitative antimicrobial consumption in two different pig finishing systems. *The Veterinary Journal*. 200(1). 98-101.
- ❖ **Munita J.M., Arias C.A. (2016).** Mechanisms of Antibiotic Resistance. *PUBME*. DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
- ❖ **Mekonnen, S.A., Lam, T.J.G.M., Hoekstra, J. (2018).** Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from milk samples of dairy cows in small holder farms of North-Western Ethiopia. *BMC Vet Res* 14, 246. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1558-1>

N

- ❖ **Nataro J.P., Kaper J.B. (1998).** Diarrheagenic Escherichia coli Center for Vaccine Development. *Clinical microbiology reviews*, 11(1):142–201. Doi: <https://doi.org/10.1128/CMR.11.1.142>.
- ❖ **Nazal Alhadj Markhous, Abdeislamtidjani, Abdeislam Adoum Doutoum, Bessimbaye Nadlaou, Djamalladine Mahamat Doungous, Balla Abdourhmane. (2019).** Microbiological characteristics and resistance profile of isolated bacteria in market garden products in N'djamena, Chad”. *Food Stability*. 2 (1): 21-30.
- ❖ **Nguyen T., Nguyen P., Quang D., Bontems P., Robert A. (2022).** Résistance aux antibiotiques des Escherichia Coli dans la gastroentérite bactérienne aiguë chez l'enfant au Vietnam. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*. 70(3) : 238. <https://doi.org/10.1016/j.respe.2022.06.266>
- ❖ **Nicholas R. A. J., Fox L. K. (2009).** Mycoplasma mastitis in cattle: To cull or not to cull is not the only question. *Veterinary Journal*, 181(2), 122-123.

O

- ❖ **O'Neill j. (2016).** Tackling drug-resistant. Infections globally: final report and Recommendations. *the review on antimicrobial resistance*. 84. 160518.
- ❖ **Ogodo A. C., Dawn I. A., Morumda D., Rufus E.A. (2022).** Chapter 13 - Microbial techniques and methods: basic techniques and microscopy. *Science direct*. 201-220. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822654-4.00003-8>.
- ❖ **Olaimat A.N., Holley R.A., Elahimanesh, P. (2019).** Survival of Cronobacter spp. In ready-to-eat foods and potential interventions for control. *Foods*. 8(8). 323.
- ❖ **Oliver S.P., Boor K. J., Murphy S. C., Murinda, S. E. (2009).** Food safety hazards associated with consumption of raw milk. *Foodborne pathogens and disease*. 6(7). 793-806.
- ❖ **Organisation Mondiale de la Santé. (2020).** Résistance aux antibiotiques. <https://www.who.int/antibiotic-resistance>. Consulté le 13 juin 2024.

P

- ❖ **Pierre S., Stéphanie D., Sophie R. (2007).** Evaluation de la résistance aux antibiotiques des bactéries E. coli dans les eaux du bassin de la Seine. *Researchgate*.

R

- ❖ **Ragul P., Dhinakar R., Ranjith K.D., Ramalakshmi S., Mahesh P., Bhavadharani P.1., Veeramani V., Arunkumar N., Siddarth P., Saravanan M. (2023).** Is AMR in Dairy Products a Threat to Human Health. *An Updated Review on the Origin, Prevention, Treatment, and Economic Impacts of Subclinical Mastitis*.Dovepress. 1.5: 24.
- ❖ **Rasigade J.P., Vandenesch F. (2014).** Staphylococcus aureus: A pathogen with still unresolved issues.*Infection. Genetics and Evolution.* 21:510-514.
- ❖ **Rodríguez., Martha F., Arlen P.G., Andres C.G., (2023).** Antimicrobial Resistance Profiles of Staphylococcus Isolated from Cows with Subclinical Mastitis: Do Strains from the Environment and from Humans Contribute to the Dissemination of Resistance among Bacteria on Dairy Farms in Colombia. *Antibiotics* 12(11): 1574. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111574>
- ❖ **Rubin J.E., Bayly M.K., Chirino-Trejo M. (2010).** Comparison of Dog and Rabbit Plasmas in the Tube Coagulase Test for Staphylococcus Aureus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.* 22(5):770-771. doi:10.1177/104063871002200521.
- ❖ **Ruegg P. L. (2017).** A 100-Year Review: Mastitis Detection, Management, and Prevention. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10381–10397. doi:10.3168/jds-12966.
- ❖ **Ruegg P. L. (2021).** A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 1234-1249.
- ❖ **Raboisson D., Ferchiou A., Pinior B., Gautier T., Sans P., Lhermie G. (2020).** The Use of Meta-Analysis for the Measurement of Animal Disease Burden: Losses Due to Clinical Mastitis as an Example. *Front. Vet.* 7 :149. Doi :10.3389/00149.

S

- ❖ **Schroeder J.W. (2012).** Mastitis Control Programs: Bovine Mastitis and Milking Management. North Dakota State University Extension Service.

- ❖ **Shields P., Cathcart L. (2016).** Oxidase Test Protocol. *American Society for Microbiology*. 1-9.
- ❖ **Sivaramalingam T., McEwen S. A., Pearl D. L., Ojkić D., Guerin M. T., Reid-Smith, R. J. (2013).** A temporal study of Salmonella serovars from environmental samples from poultry breeder flocks in Ontario between 1998 and 2008. *Canadian journal of veterinary research*. 77(4), 264.

T

- ❖ **Tabak S., Bensoltane A. (2012).** L'activité Antagoniste Des Bactéries Lactiques (streptococcus Thermophilus, Bifidobacterium Bifidum Et Lactobacillus Bulgaricus) Vis-à- Vis De La Souche Helicobacter Pylori Responsable Des Maladies Gastroduodénales. *Nature & technologie*. 6. 71-79.
- ❖ **Triadi B, Suwarno S, Sarudji S, Damayanti R, Sugihartuti R, Estoepangesti A.T.S. 2022.** Antibiotic sensitivity test of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from the reproductive tract of dairy cows. *Ovozoa: Journal of Animal Reproduction*. 11: 72-80.

V

- ❖ **Ventola, C. L. (2015).** The antibiotic resistance crisis. causes and threats. *journal for formulary management*. P & amp. 40(4), 277.
- ❖ **Versalovic J. Carroll K.C. Funke G. Jorgensen J.H, Landry M.L. Warnock D.W. (2011).** Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci. *Manual of Clinical Microbiology*.308-330.DOI:10.1128/9781555816728.ch19

W

- ❖ **Wellington E. M., Boxall A. B., Cross P., Feil E. J., Gaze W. H., Hawkey P. M., Osborn A. M. (2013).** The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in gram-negative bacteria. *The Lancet infectious diseases*. 13(2). 155-165.

X

- ❖ **Xiaoping L., Chuang X., Bingchun L., John P., Bo H., Xiaofang T., Jian G. (2023).** Alternatives to antibiotics for treatment of mastitis in dairy cows. *Veterinary Pharmacology and Toxicology*. (10). <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1160350>.

Z

- ❖ **Zadoks R.N., Fitzpatrick J.L. (2009).** Changing trends in mastitis. *Irish Veterinary Journal*, 62(4), S59–S70.
- ❖ **Zafindrasoa D., Fidiniaina M., Rasoanandrasana S., Raverohanta L., Andriamiadana L. (2017).** Phénotypes de résistance des souches d’*Escherichia coli* responsables d’infection urinaire au laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Befelatanana Antananarivo. *PanAfrMed*. 26 : 166.
- ❖ **Zeuko M.E., (2023).** Antibiotics - Therapeutic Spectrum and Limitations. *Developments in Microbiology*. 375-389.<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95388-7.00013-9>
- ❖ **Zaatout N. (2022).** An overview on mastitis-associated *Escherichia coli*: Pathogenicity, host immunity and the use of alternative therapies. *Microbiological Research*, 256,126960. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126960>

Annexes

Tableau N° 01 : Résultats d'identification par la galerie Api 20E

Tests	Résultat Négatif	Résultat Positif	Réaction	Composants actives
ONPG	Incolore	Jaune	B galactosidase (Ortho nitro phényle β D galactopyranoside)	2-nitrophénil. β D galactopyranoside
ADH	Orange	Jaune/Rouge	Arginine d'hydrolase	L'arginine
LDC	Orange	Jaune/Rouge	Lysine décarboxylase	Lysine
ODC	Jaune	Rouge/Orange	Ornithine décarboxylase	L'ornithine
CIT	Jaune	Vert pale	Utilisation du citrate	Tri sodium citrate
H2S	Incolore	Dépôt noire	Production d'H2S	Sodium thiosulfate
URE	Orange	Jaune/Rouge	Uréase	Urée
TDA	Marron	Rougeâtre	Ttryptophane désaminase	L-tryptophane
IND	Incolore	Rose	Production indole	L-tryptophane
VP	Incolore	Rouge/Rose	Production d'acétoïne	Sodium pyruvate
GEL	Non diffusion	Diffusion du pigment noir	Gélatinase	Gélatine origine bovine
GLU	Bleu	Jaune	Fermentation/oxydation du glucose	D-glucose
MAN	Bleu	Jaune vert	Fermentation/oxydation du mannitol	D-mannitol
INO	Bleu	Jaune vert	Fermentation/oxydation du inositol	Inositol
SOR	Bleu	Jaune vert	Fermentation/oxydation du sorbitol	D-sorbitol
RHA	Bleu	Jaune vert	Fermentation/oxydation du mannose	L- mannose
SAC	Bleu	Jaune vert	Fermentation/oxydation du saccharose	D-saccharose
MEL	Bleu	Jaune vert	Fermentation/oxydation du d-mélibiose	D- mélibiose
AMY	Bleu	Jaune vert	Fermentation d'amygdaline	Amygdaline
ARA	Bleu	Jaune vert	Fermentation d'arabinose	L- arabinose

Tableau N°02 : Résultats d'identification par la galerie Api STAPH.

Test	Résultats positive	Résultats Négative	Réaction	Composants Actives
ADH	Orange/Rouge	Jaune	Hydrolyse de l'arginine en ornithine	Arginine Dihydrolase
URE	Rouge/violet	Jaune	Hydrolyse de l'urée en ammoniac	Uréase
NAG	Jaune	Rouge	Hydrolyse du substrat	β -N Acétylglucosaminidase
MNE	Jaune	Rouge	Acidification (mannose)	D-mannose
MAL	Jaune	Rouge	Fermentation du maltose	Maltose
LAC	Jaune	Rouge	Fermentation du lactose	Lactose
TRE	Jaune	Rouge	Fermentation du tréhalose	Tréhalose
MAN	Jaune	Rouge	Fermentation du mannitol	Mannitol
XLT	Jaune	Rouge	Acidification (xylose)	D-xylose
MEL	Jaune	Rouge	Acidification(mélibiose)	D-mélibiose
NIT	Rouge	Jaune	Réduction des nitrates en nitrites	Nitrate de potassium
PAL	Violet	Jaune	Phosphatase alcaline	Op-nitrophényl phosphate
VP	Violet	Incolore	Production d'acétyle méthyl-carbinol	Sodium pyruvate
RAF	Jaune	Rouge	Fermentation du raffinose	Raffinose
XYL	Jaune	Rouge	Fermentation du xylose	Xylose
SAC	Jaune	Rouge	Fermentation du saccharose	Saccharose
MDG	Jaune	Rouge	Fermentation du mélibiose	Mélibiose
GLU	Jaune	Rouge	Fermentation du glucose	Glucose

Composition du milieu Emb (Delarras,2014) :

Peptone.....	10g
Lactose.....	10g
Dihydrogénophosphate de potassium.....	2g
Eosine jaunâtre.....	0,4g
Bleu de méthylène.....	0.065g
Agar-agar.....	13.5g

Ph 7,0±0,2à25°C

Composition Milieu de Chapman (Guiraud, 1998) :

Extrait de viande.....	1g
Peptone	10g
Chlorure de Sodium (NaCl).....	75g
Mannitol.....	10g
Rouge de phénol.....	0,025g
Gélose.....	18g
Eau distillée.....	1000 mL

Autoclaver à 120 °C/20mn

Composition du Triple sugar Iron Agar (Hajna , 1945) :

Lactose.....	10g
Chlorure de sodum.....	5g
Saccharose.....	10g
Glucose.....	1g
Sulfate d'ammonium ferreux.....	0.2g
Thiosulfate de sodium.....	0.2g
Rouge de phénol.....	0.025g

Ph=7.4

Composition du Viande-foi (Delarras, 2014) :

Base Viande-foi.....	29,5g
Glu cose.....	2g
Chlorhydrate de cystéine.....	0,5g

Ph=7,4±0.2 à 25°C

Composition du Milieu Urée indole :

L-Tryptophane.....	3g
Phosphate mono potassique.....	1g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate bipotassique.....	1g
Rouge de phénol	0,025g

Urée20g

Alcool 95°C0,01ml

PH =6,7

Composition du Milieu Mannitol-Mobilité :

Peptone de viande..... 20g

Agar.....4g

Mannitol.....2g

Rouge de phénol.....4ml

Eau distillée..... 1L

PH=7,6

Composition Milieu Muller –Hinton (Lorian, 2005) :

Infusion de viande de bœuf.....3000ml

Peptone de caséine.....17,5g

Amidon de maïs.....1,5g

Agar-agar.....17g

Eau distillée 1l

PH=7,4. Autoclavage : 120°C pendant 20minutes.



Figure N°01 : Résultats de test Citrate de Simon.

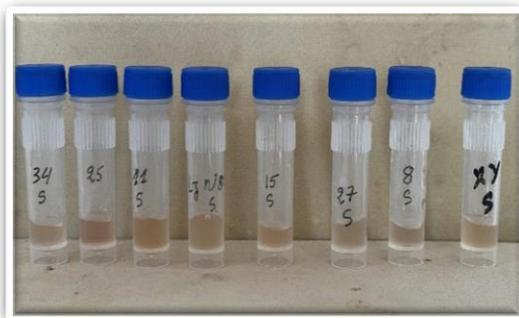


Figure N° 02 : Plasma de lapin.



Figure N° 03 : Résultats de test mannitol mobilité.



Figure N°04 : Résultats de test TSI

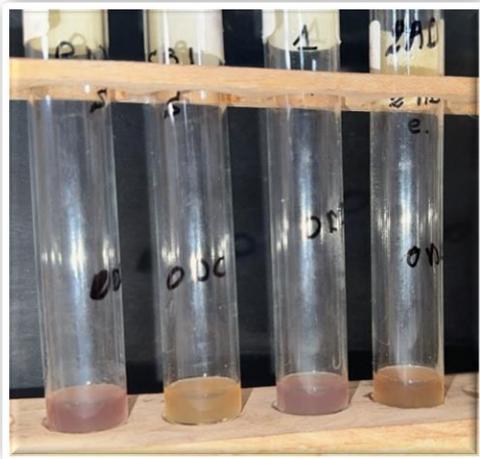


Figure N°05 : Résultats de test ODC.



Figure N°06 : Résultats de test Viande Foie.



Figure N°07 : Résultat de test ADH.



Figure N°08 : Résultat de test ONPG.

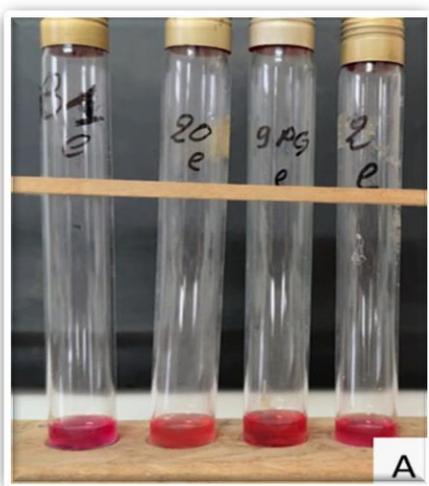


Figure N°09 : A. Résultats de test Urée. B. Résultats de test Ind



Figure N°10 : Résultats de test Catalase

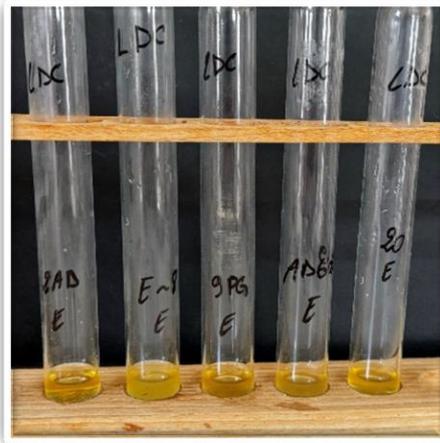


Figure N°11 : Résultats de test LDC



Figure N°12 : Résultats de test Schuber

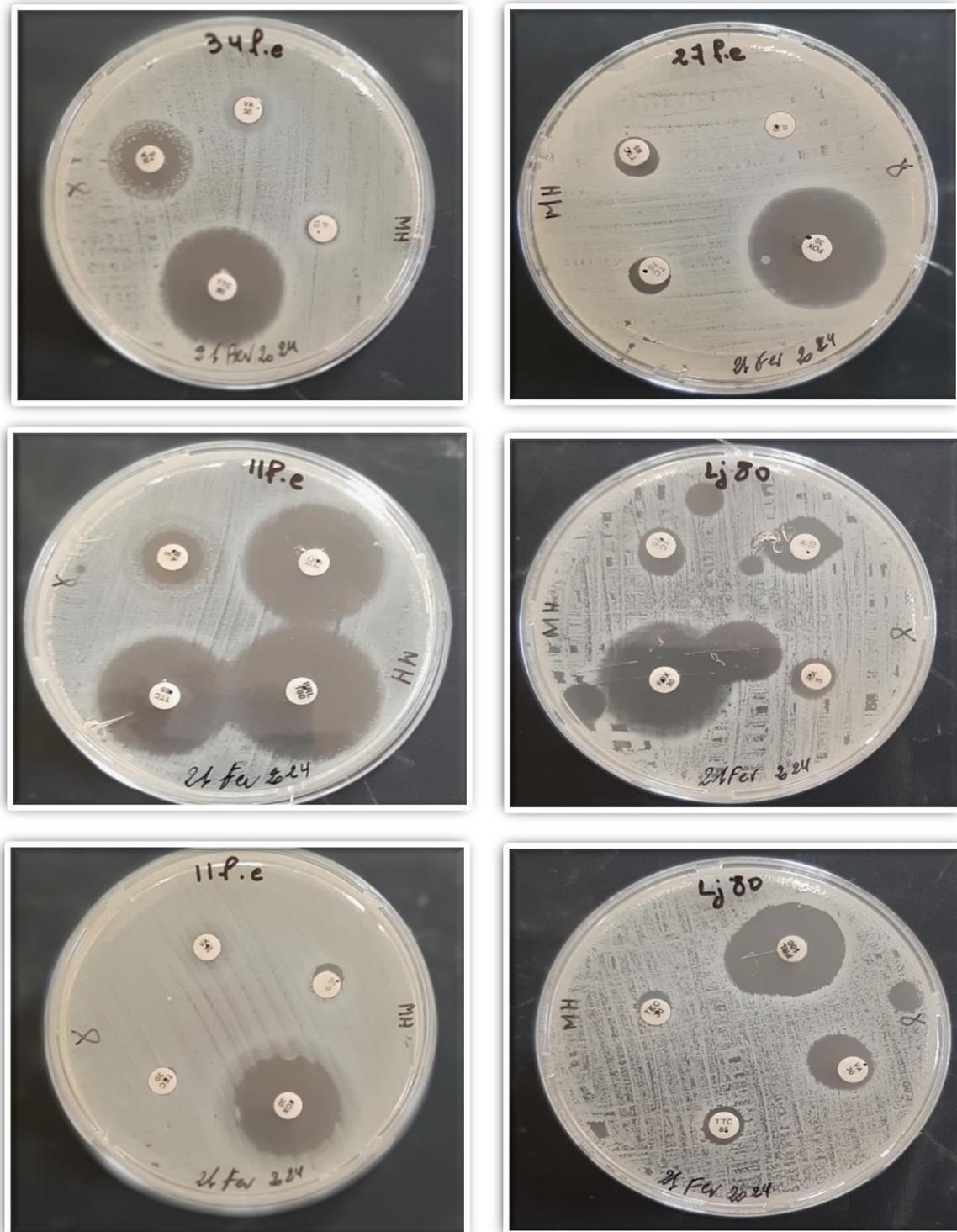


Figure N°13 : Résultats des tests d'antibiotiques



Figure N°14 : Antibiotiques



Figure N°15 : Technique de standardisation.



Figure N°16 : Technique d'antibiogramme.



Figure N°17 : Spectrophotomètre



Figure N°18 : Microscope Optique



Figure N° 19 : Vortex



Figure N° 20 : Pied à colisse



Figure N° 21 : Stérilisateur UV



Figure N°22 : Autoclave



Figure N°23 : Bain Marie



Figure N° 24 : Etuve



Figure N°25 : Four Pasteur

Résumé

Résumé

La mammite est une inflammation de la glande mammaire chez les vaches laitière, causée principalement par des infections bactériennes. Cela entraîne une diminution de la quantité et la qualité de lait et affecte son économie. Notre étude s'est focalisée sur l'évaluation de la sensibilité des souches bactériennes isolées de lait cru mamiteux aux différents antibiotiques. Sur 100 échantillons de lait de vache souffrant de mammite pris dans deux fermes différentes (la ferme expérimentale de l'université IBN KHALDOUN - Tiaret, celle de Boukheteche-Rahouia) testé par CMT.

D'après nos résultats, nous avons isoler et identifier deux bactéries majeurs responsables aux mammites à partir de 66 échantillons contaminés, il s'agit d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus spp.* L'identification de ces souches a été confirmée par des tests morphologiques, biochimiques et l'utilisation de galeries d'identification spécifiques. Cependant, Les souches obtenues ont été soumise à une identification biochimique, suivie par l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques par la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques sur la gélose Mueller-Hinton. Nos résultats montrent que sur 29 souches d'*E.coli*, (72,41%) sont résistantes à la Lincomycin et (34,84%) à la Pénicilline, un taux de résistance relativement faible a été observé à la Kanamycine de (3.44%). Par ailleurs, aucune résistance n'a été notée vis-à-vis de la Vancomycine, Cefoxitin et de l'Amikacine. Sur les 37 souches de *S. xylosus*, (18,91%) sont résistante à la Lincomycin, (2.7%) a la Vancomycine, Cefoxitin et Pénicilline, pour l'Amikacine et la Kanamycine toutes les souches y sont sensibles.

Mots clés : antibiorésistance, mammite, *E. coli*, *S. xylosus*, lait.

Abstract

Mastitis is an inflammation of the mammary gland in dairy cows, mainly caused by bacterial infections. This leads to a decrease in both the quantity and quality of milk, affecting its economy. Our study focused on evaluating the sensitivity of bacterial strains isolated from mastitis raw milk to different antibiotics. Out of 100 samples of milk from cows suffering from mastitis taken from two different farms (experimental farm univ IBN KHALDOUN -Tiaret and Boukheteche-Rahouia) tested by CMT, our results showed that we isolated and identified two major bacteria responsible for mastitis from 66 contaminated samples: *Escherichia coli* and *Staphylococcus spp.* The identification of these strains was confirmed through morphological and biochemical tests, as well as the use of specific identification galleries.

However, the obtained strains underwent biochemical identification, followed by studying their antibiotic sensitivity using the disc diffusion method on Mueller-Hinton agar. Our results indicate that out of 29 *E. coli* strains, 72.41% were resistant to Lincomycin, 34.84% to Penicillin, with a relatively low resistance rate observed for Kanamycin at 3.44%. Additionally, no resistance was noted against Vancomycin, Cefoxitin, and Amikacin. Among the 37 *S. xylosus* strains, 18.91% were resistant to Lincomycin, while 2.7% were resistant to Vancomycin, Cefoxitin, and Penicillin. All strains were sensitive to Amikacin and Kanamycin.

Keywords: antibioresistance, mastitis, *E. coli*, *S. xylosus*, milk.

ملخص

التهاب الضرع هو التهاب في غدة الثدي لدى الأبقار الحلوب، ناجم أساساً عن العدوى البكتيرية. حيث يؤدي ذلك إلى انخفاض في كمية وجودة الحليب المنتجة، مما يؤثر على الاقتصاد الوطني. تركزت دراستنا على تقييم حساسية سلالات البكتيريا المعزولة من الحليب الطازج الأبقار المصابة بالتهاب الضرع ضد المضادات الحيوية المختلفة. من بين 100 عينة من حليب الأبقار المصابة بالتهاب الضرع والتي تم أخذها من مزرعتين مختلفتين (المزرعة التجريبية لجامعة ابن خلدون - تيارت وبوختاش - رحوية) وتم اختبارها بواسطة اختبار CMT ، أظهرت نتائجنا أننا تمكننا من عزل سلالتين رئيسيتين مسؤولتين عن التهاب الضرع من بين 66 عينة ملوثة هي: العصيات القولونية والمكورات العنقودية. حيث تم تعريف هذه السلالات عن طريق الاختبارات المورفولوجية وبيوكيميائية، بالإضافة إلى استخدام معارض التعريف الخاصة.

كم تم دراسة حساسيتها للمضادات الحيوية باستخدام طريقة انتشار الأقراص على وسط مولر-هينتون. تشير نتائجنا إلى أن 72.41% من سلالات إشريشيا كولاي كانت مقاومة للينكومايسين، و34.84% للبنسلين، مع معدل مقاومة منخفض نسبياً للكاناميسين بنسبة 3.44%. بالإضافة إلى ذلك، لم يُلاحظ وجود أي مقاومة ضد الفانكومايسين، السيفوكسيتين، والأميكاسين. من بين 37 سلالة من المكورات العنقودية، كانت 18.91% منها مقاومة للينكومايسين، بينما كانت 2.7% مقاومة للفانكومايسين والسيفوكسيتين والبنسلين. في حين كانت جميع السلالات حساسة للأميكاسين والكاناميسين.

كلمات مفتاحية: مقاومة المضادات الحيوية، التهاب الضرع، العصيات القولونية، المكورات العنقودية، حليب