



Institut des Sciences  
Vétérinaires- Blida



Université Saad  
Dahlab-Blida 1-

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

***Isolement, identification et antibiorésistance des staphylococcus aureus dans  
la région de Fréha (Wilaya Tizi-Ouzou)***

Présenté par  
**HOCINE Fatiha**

Devant le jury :

<b>Président :</b>	TRIKI YAMANI Ridha Rachid	Professeur	<b>ISV.B</b>
<b>Examinatrice :</b>	HAMMAMI Nabila	MAA	<b>ISV.B</b>
<b>Promoteur :</b>	BACHIR PACHA Mohammed	Professeur	<b>ISV.B</b>

**Année : 2015/2016**

# REMERCIEMENT

Je remercie le seul Dieu de m'avoir donné la santé, la patience, afin que je puisse accomplir ce modeste travail

**Au Professeur BACHIR PACHA MOHAMMED**

Je tiens beaucoup à remercier mon promoteur qui m'a fait l'honneur de m'encadrer, sa compréhension, sa modestie, son aide et son orientation, m'a permis la réalisation de ce travail.

Mes vifs remerciements s'adressent aussi aux membres du jury qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail

Je témoigne aussi ma gratitude à l'ensemble des vétérinaires, éleveurs et aux travailleurs de la bibliothèque, qui m'ont permis la réalisation de ce travail.

Sincères remerciements au responsable du centre de calcul de l'institut des sciences vétérinaires de BLIDA « **Mr ABD EL KADER** ».

Remercîment aussi à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



## **Dédicace**

**Je dédie ce travail à :**

**- Ma famille.....**

**-Mes sœurs et frères qui m'ont soutenu tout le long de mes études.**

**-Ma chère « Hiba » qui a été toujours à mes côtés dans les moments difficiles.**

**-À mes collègues de notre promotion de 5èmes année, ainsi que ceux des autres promotions.**

**Fatiha.**

**Résumé :**

L'étude de l'antibiorésistance de *Staphylococcus aureus* isolés à partir des laits mammites individuels, a été faite sur dix souches à partir des quartiers de vaches résistantes aux traitements. Après isolement et identification des souches, des antibiogrammes ont été réalisés par la méthode de diffusion sur gélose.

Sur l'ensemble des isolats, presque la totalité des souches isolées s'est avérée résistante à l'Ampicilline et à l'Erythromycine avec un taux de 70%, aussi une résistance significative a été observée pour l'Acide oxolinique et la Vancomycine avec des taux respectifs de 60% et 50%. A l'opposé les sensibilités les plus marquées ont été constatées pour la Gentamycine et la Rifampicine avec un taux de 60%.

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

**Summarize:**

The study of the antibiorésistance of *Staphylococcus aureus* isolated starting from individual mammites milks, was made on ten stocks of *Staphylococcus aureus* isolated starting from the districts of the cows resistant to the treatments. After insulation and identification of the stocks, antibiogrammes were carried out by the method of diffusion in gélose.

On the whole of the isolates almost the totality of the stocks isolated proved to be resistant to Ampicilline and Erythromycine with rate of 70%, also a significant resistance for the Acid oxolinic and Vancomycine with respective rates of 60% and 50%. To the opposition the most marked sensitivities were announced for Gentamycine and Rifampicine with a rate of 60%.

**Keyword:** cows, mammites Milk individual. *Staphylococcus aureus*. Antibioresistance.

## المخلص

مناجدراسة مقاومة المضادات الحيوية للمكورات العنقودية الذهبية ال

مفاتيح البحث البقرة- حليبها تمنالتهاب بالضرع- المكورات العنقودية الذهبية- المضادات الحيوية المقاومة-

## الملخص:

ان دراسة مقاومة المضادات الحيوية للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من حليب الأبقار التي تعاني من سلالات معزولة من ضرع الأبقار المقاومة للعلاج . بعد العزل و التعرف على التهاب الضرع، حيث أجريت على عشر السلالات أجري الأنتغرام عن طريق النشر على الجلوز.

تقريبا كل السلالات المعزولة في المجموعة المدروسة من المؤكد انها مقاومة للأمبسلين و الإريثروميسين بنسبة 70%، إضافة إلى مقاومة معتبرة لحامض الأكزولونيك و الفانكوميسين بنسبة متتابة 60% و 50%.

في المقابل نلاحظ حساسية جد واضحة للجونتاميسين و الرفاميسين بنسبة 70%.

**مفاتيح البحث:** الأبقار - حليب ات من التهاب الضرع- المكورات العنقودية الذهبية- المضادات الحيوية المقاومة.

## Sommaire

### PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE :

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>CHAPITRE I : La Mamelle et la mammite</b> .....	2
I.1. Rappels anatomiques et les défenses de la glande mammaire.....	2
I.1.1. Anatomie de la glande mammaire chez la vache.....	2
I.1.2. Défenses de la glande mammaire .....	2
I.1.3. Particularité de la période de tarissement.....	3
I.2. Mammites bovines.....	3
I.2.1. Définition de la mammite.....	3
I.2.2. Caractéristiques des différents types de mammites.....	4
I.2.3. Etiologie de la mammite.....	4
I.2.4. Mécanisme d'apparition de la mammite par <i>Staphylococcus aureus</i> .....	6
I.3. Méthode de diagnostic des infections mammaires.....	6
I.3.1. Diagnostic clinique.....	7
I.3.2. Diagnostique Bactériologique.....	7
<b>Chapitre II : Staphylococcus Aureus</b> .....	8
II.1. Généralité sur les <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
II.1.1. Historique.....	8
II.1.2. Classification.....	8
II.1.3. L'Habitat.....	9
II.1.4. Transmission.....	9
II.1.5. Caractères morphologique.....	10
II.1.6. Facteurs de virulence.....	10
II.1.6.1. Composants de la paroi et la capsule.....	11
II.1.6.2. Protéines de surfaces.....	12
II.1.6.3. Protéines sécrétées ou toxines.....	16

II.2.Diagnostic Bactériologique du S. aureus.....	17
II.2.1. Caractère culturaux.....	18
II.2.2.Milieux d'isolement utilisés.....	18
II.2.3.Caractères biochimiques.....	19
<b>Chapitre III : Les antibiotiques et antibiorésistance.....</b>	<b>20</b>
<b>III.1. Les antibiotiques.....</b>	<b>20</b>
III.1.1. Définition.....	20
III.1.2.Activitésdesantibiotiques.....	20
III.1.3. Modes d'action des principales familles d'antibiotique.....	21
III.1.3.1. Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi.....	21
III.1.3.2. Antibiotique inhibant la synthèse protéique.....	22
III.1.3.3. Antibiotiques inhibant la synthèse de l'ADN.....	23
III.1.3.4. Antibiotiques inhibant la synthèse du folate.....	23
III.1.4.Antibiotiques anti-staphylococciques.....	24
<b>III.2.La résistance aux antibiotiques.....</b>	<b>26</b>
III.2.1. Définition de la résistance bactérienne.....	26
III.2.2. Type de résistances.....	26
III.2.2.1. Résistance naturelle.....	27
III.2.2.2. Résistance acquise.....	27
III.2.3. Supports génétiques des mécanismes de la résistance.....	27
III.2.4. Mécanisme de résistance aux antibiotiques.....	28
III.2.4.1. Résistance aux Bêta-lactamines.....	31
III.2.4.2. Résistances à la méticilline.....	31

III.2.4.3. Résistance aux Aminosides.....	32
III.2.4.4. Résistance aux tétracyclines.....	32
III.2.4.5. Résistance aux Macrolides, Lincosamides et Streptogramine.....	33
III.2.4.6. Résistance aux glycopeptides.....	33
III.2.4.7. Résistance au sulfamide en association avec Triméthoprim.....	34
III.2.5. Evolution de résistance de S. aureus envers les antibiotiques.....	34
III.2.5.1. Situation en médecine humaine.....	35
III.2.6.2. Situation en médecine vétérinaire.....	36
III.2.7. Facteur de risque.....	37
<b><u>LA PARTIE EXPERIMENTALE</u></b> .....	<b>38</b>
I. Lieu.....	38
I.1. Prélèvement.....	38
I.1.1. Matériel .....	38
I.1.2. Echantillonnage .....	38
I.1.2.1. Laits individuels.....	39
I.1.3. Technique.....	39
I.1.4. Conservation et acheminement.....	39
II. Exploration du prélèvement.....	39
II.1. Matériel.....	39
II.1.1. Matériel spécifique.....	40
II.2. Méthodes.....	40
II.2.1. Isolement.....	40
II.2.2. Identification.....	41
II.2.3. Antibiogramme.....	43

II.2.4. Contrôle de qualité interne.....	43
II.2.4.1. Procédure de contrôle interne.....	44
II.2.4.2. Lecture et l'interprétation des diamètres des zones d'inhibition.....	45
II.2.4.3. Milieu de culture.....	45
II.2.4.4. Contrôle de l'inoculum.....	45
II.2.4.5. Disques d'antibiotiques.....	45
II.2.4.6. Souches de référence .....	45
II.3. Résultats et discussions.....	45
II.3.1. Résultats.....	45
II.3.1.1. Résultats du test.....	45
II.3.1.2. Résultat d'antibiogramme.....	46
II.3.2. Discussion.....	49
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>50</b>
<b>ANNEXES</b>	

## LA LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 01:</b> Caractéristiques des différents types de mammites.....	4
<b>Tableau 02 :</b> Germes responsables de mammites.....	5
<b>Tableau03:</b> Facteurs de virulence et les fonctions putatives respectives impliquées dans la pathogénie de <i>S. aureus</i> .....	14
<b>Tableau04:</b> Facteurs de SERAM de <i>S. aureus</i> et leurs effets sur l'hôte.....	15
<b>Tableau 05 :</b> Principales toxines produites par <i>S. aureus</i> .....	16
<b>Tableau06:</b> Caractère d'identification de <i>S. aureus</i> .....	19
<b>Tableau07:</b> Principaux anti-staphylococciques.....	24
<b>Tableau 08 :</b> Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour <i>S. aureus</i> .....	43
<b>Tableau 09:</b> Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour <i>S. aureus</i> ATCC 25923 utilisées pour le contrôle de qualité.....	44
<b>Tableau 10:</b> Répartition de la mammite clinique sur les différents quartiers de la mamelle chez les vaches.....	45
<b>Tableau 11 :</b> Résultats des diamètres des zones d'inhibition des <i>S. aureus</i> .....	47
<b>Tableau 12:</b> Classement des souches selon leurs diamètres d'inhibition vis-à-vis des antibiotiques.....	47
<b>Tableau 13 :</b> Nombre des souches sensibles, intermédiaires et Résistantes de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques testés.....	47
<b>Tableau 14 :</b> Pourcentagedes souches sensibles, intermédiaires et Résistantes de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques testés.....	48

## LA LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01</b> :Conformation de la mamelle chez la vache.....	2
<b>Figure 02</b> :Composition de la paroi des Gram positives (+).....	11
<b>Figure 03</b> :Schéma des facteurs de virulence chez S. aureus.....	12
<b>Figure 04</b> :Exemple d'un facteur qui provoque l'interaction entre S. aureus et la cellule hôte.....	13
<b>Figure 05</b> :Structure de MSCRAMM.....	14
<b>Figure 06</b> :Phénomène de transpeptidation de l'adhésine.....	14
<b>Figure 07</b> :Coloration en Gram de S. aureus.....	19
<b>Figure 08</b> :comment l'antibiorésistance se déroule.....	27
<b>Figure 09</b> :Localisation des gènes de résistance.....	28
<b>Figure 10</b> :Mécanismes de la résistance aux antibiotiques.....	29
<b>Figure 11</b> :principe de l'acquisition à la résistance aux antibiotiques adapté de Nature, et les trois (3) modes de transmission génétique.....	31
<b>Figure 12</b> :Exemple de propagation d'antibiorésistance. ....	35
<b>Figure 13</b> : Répartition des mammites sur différents quartiers de la mamelle.....	47
<b>Figure 14</b> : Histogramme des souches sensibles, intermédiaires et Résistantes de Staphylococcus aureus aux antibiotiques testés.....	49

## **LA LISTE DES ABREVIATION:**

**S. aureus** : Staphylococcus aureus.

**ATB** : Antibiotique.

**Aa**: Acide aminée.

**ACME**: Arginine Catabolic Mobile Element.

**ADN**: Acide désoxyribonucléique.

**Agr**: Accessory gene regulator ou gène régulateur accessoire.

**ARNm**: Acide Ribonucléique messenger.

**ARNr 16S**: Sous-unité 16S de l'Acide Ribonucléique ribosomique.

**Clf**: Clumping factor.

**ClfA**: Clumping factor A.

**CMB**: Concentration Minimale Bactéricide.

**CMI**: Concentration Minimale Inhibitrice.

**CML** : La concentration minimale létale.

**CNS ou CoNS** : Staphylococcus à Coagulase Négative.

**Cna**: Collagen binding protein.

**DNase**: Désoxyribonucléase.

**DHFR**: Dihydrofolate réductase.

**DHPS**: Dihydroptéroate synthétase.

**Eap**: Extracellular adherence protein.

**Efb:** Extracellular fibrinogen binding protein.

**Emp:** Extracellular matrix binding protein.

**Erm:** Erythromycin resistance methylase.

**ET:** Exfoliatine.

**FnBP:** Fibrinogen Binding Protein.

**IgG:** Immunoglobulines G.

**IgM:** Immunoglobulines M.

**InVS:** Institut de Veille Sanitaire.

**LPV:** Leucocidine de Panton Valentine.

**LPXTG:** Leucine-Proline- acide aminé X-Thréonine- Glycine.

**MLS:** Macrolides, Lincosamides et Synergystines.

**MSCRAMM:** Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules.

**ONERBA :** l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques.

**PAB:** Para-Amino Benzoïque.

**PLP:** Protéines Liant la Pénicilline.

**SASM:** *Staphylococcus aureus* Sensible à la Méricilline.

**SARM:** *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline.

**SCCmec:** Cassettes Chromosomiques Staphylococciques *mec*

**SCN :** Staphylocoque à coagulase négative.

**SCP** : Staphylocoque à coagulase positive.

**SE**: Staphylococcal Enterotoxin.

**SERAM**: Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules.

**Spa**: Surfactant protein A.

**TIA**: Toxi-Infection Alimentaire.

**TIAC**: Toxi-Infection Alimentaire Collective.

**TSST1**: Toxine du choc staphylococcique.

**VISA**: Vancomycine-intermediate *S. aureus*

**VRSA**: Vacomycin-resistant *S. aureus*

**ml** : mililitre.

## **Introduction :**

En Algérie, Les mammites bovines constituent une pathologie dominante dans les élevages bovins laitiers comme dans la plupart des pays. Plusieurs études ont été réalisées sur l'estimation de la fréquence des mammites subclinique et clinique chez les bovins laitiers (**Nair et al. 2000, Kebbal. 2002**). Mais il faut signaler le manque d'études approfondies sur les germes responsables de mammites et leurs antibiorésistances.

Parmi les agents infectieux majeurs causant la mammité est *Staphylococcus aureus*. Ce germe est présent partout à la surface de la peau et des muqueuses et en particulier au niveau des trayons (**Durel et al, 2004 ; Van de Leemput, 2007**), il est à la fois agent commensal et un agent pathogène (**Cohen, 1972**).

La bactérie *S. aureus* est bien équipée pour se protéger. Ses propriétés lui permettent de résister aux attaques du système de défense et de s'isoler derrière un mur de protection ou la paroi de l'abcès qui empêche certains antibiotiques de l'atteindre (**Luc Descôteaux, 2004**).

Auparavant l'approche thérapeutique liée à la révélation des antibiotiques ne permet pas de redouter ces infections. Au cours de ces dernières années, l'utilisation excessive des antibiotiques contribue à l'apparition des souches de *S. aureus* résistantes aux antibiotiques. (**Pasmans et al, 2008**).

Le problème d'antibiorésistance chez *S. aureus* est un problème reconnu à l'échelle internationale, il fait l'objet d'un intérêt scientifique en raison de son expansion continue, ce phénomène s'intensifie en absence de mesure d'hygiène et d'entretien rigoureux.

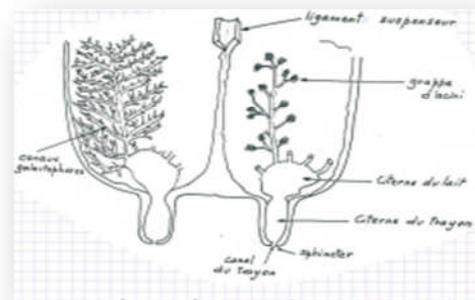
La présente étude vise à étudier cette bactérie chez le bovin, où nous avons effectuée des prélèvements de lait mammitéux pour l'isolement des *S. aureus*, après l'identification biochimique nous avons également étudié la résistance de ces souches à diverses familles d'antibiotiques.

## CHAPITRE I : La Mamelle et la mammite.

### I.1. Rappels anatomiques et les défenses de la glande mammaire:

#### I.1.1. Anatomie de la glande mammaire chez la vache:

La vache possède deux paires de mamelle inguinales : deux quartiers antérieurs et deux quartiers postérieurs. Chaque mamelle se prolonge par un trayon au sommet et s'ouvre par le canal du trayon. Les mamelles sont réunies extérieurement par une masse hémisphérique appelée le pis (**Hanzen, 2000**).



**Figure 01** : Conformation de la mamelle chez la vache (**Hanzen, 2010**)

Le lait est sécrété dans des vésicules de 100 à 300 microns appelé alvéole ou acini organisé en grappe. Elles s'ouvrent sur des arborisations canaliculaires : les canaux galactophores qui drainent le lait de son lieu de sécrétion vers la citerne du pis et le trayon (**Pulvinage et al, 1991**). Le trayon qui s'ouvre un seul orifice au sommet punctiforme au repos mais aisément dilatable (**Hollmann, 1974**). L'alvéole est entouré extérieurement par une couche de cellules cuboïde nommé les lactocytes. La capacité de production laitière d'un animale dépend les capacités de synthèse et de sécrétion de lactocyte et leur nombre ; qui sont varient en fonction des races et le stade de lactation (**Pulvinage et al, 1991**).

#### I.1.2. Défenses de la glande mammaire :

##### ➤ Canal de trayon :

Son anatomie permet d'obstruer l'extrémité distale des trayons mamellaire par un muscle circulaire nommé le sphincter. La mamelle est particulièrement sensible aux infections lors et pendant 30 à 60 min après la traite où cette première barrière est absente, à part cette période il est présent en continu car l'épithélium du trayon produit en continue la kératine

# Mamelle et Mammite

---

qui occupe la lumière du canal et joue un rôle important dans la fixation des germes jusqu'à leur expulsion lors de la traite (les trois premiers jets). Une détérioration surtout de sphincter du canal du trayon c'est l'un des facteurs de risque reconnu de nouvelle infection ce que montre l'importance de cette barrière passive (**Ramy, 2007 ; Smith, 2008**).

## ➤ Défenses cellulaires :

La mamelle présente des cellules de l'immunité dont on a les macrophages, les lymphocytes, les polynucléaires et complément (**Meunier, 1999**). Les cellules épithéliales interviennent aussi dans les mécanismes de défense suite à la reconnaissance du lipopolysaccharide des Gram négatives, et l'acide lipoteichoïque des Gram positives. (**Jean-Baptiste et al, 2010**).

## ➤ Défenses non cellulaires :

Elles comprennent les molécules à activités antimicrobiennes présentes dans la mamelle, le complément et les immunoglobines. Parmi les molécules à activité antimicrobienne les plus importants sont les lactoferrines. Les immunoglobines sont en faible concentration dans le lait sain, mais leur concentration augmente rapidement lors d'une infection (**Remy, 2007 ; Smith, 2008**).

### **I.1.3. Particularité de la période de tarissement (période sèche) :**

Pendant cette période on observe dix fois plus des nouvelles infections mammaires par rapport à la période de lactation. Des variations de la sensibilité de la mamelle à l'infection ont été observées, ils sont dus à des modifications importantes des défenses de la mamelle ; le canal du trayon est scellé pendant la période sèche par un bouchon de kératine mais il disparaît avant le vêlage. (**Bradley, 2004**).

## **I.2. Mammmites bovines :**

### **I.2.1. Définition de la mammite :**

Une mammite est une inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle, provoquée généralement par une infection bactérienne ou suite à un traumatisme de la mamelle, des désordres physiologiques (plus rares), par les Algues, levures. L'infection mammaire peut prendre diverses formes suivant soit associée ou non à des signes cliniques (**Gedilaghine, 2005**).

# Mamelle et Mammite

## I.2.2. Caractéristiques des différents types de mammites :

Type de mammite	Symptômes caractéristiques ou définition
Clinique aiguë	Inflammation de la mamelle, fièvre de plus de 39C, sujet faible et déprimé, manque d'appétit. Rendement laitier baisse drastiquement. Suit souvent le vêlage et, de façon moins grave, le tarissement.
Clinique suraiguë	Quartier enflé, chaud, rouge, douloureux. Le lait passe difficilement. Fièvre de plus de 41C, la vache n'a pas d'appétit, frissonne et perd du poids rapidement. La lactation est souvent interrompue.
Clinique subaiguë	Aucun changement apparent du pis, présence de caillots dans le lait, surtout dans les premiers jets. Sujet bien portant.
Infraclinique	Aucun symptôme. 15 à 40 cas pour un cas clinique. Le lait est d'apparence normale. Le seul changement est la détection de l'agent pathogène à l'analyse et l'accroissement du compte somatique. Surtout causée par <i>Staphylococcus aureus</i> .
Chronique	Attaques cliniques répétées mais peu fortes, généralement sans fièvre. Lait grumeleux, quartiers enflés parfois. Le quartier peut devenir dur (indurations fibreuses). Les traitements antibiotiques ne fonctionnent souvent pas.
Gangréneuse	Le quartier affecté est bleu et froid au toucher. La décoloration progresse du bas vers le haut. Les parties nécrotiques tombent du corps. La vache en meurt souvent.
Contagieuse	Mammite provoquée par des bactéries comme <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Streptococcus agalactiae</i> , dont les vaches infectées sont la source principale.
Environnementale	Mammite provoquée par des bactéries comme les coliformes ( <i>E. coli</i> , etc.), dont la source principale est un environnement contaminé le plus souvent par du fumier.

**Tableau 01:** Caractéristiques des différents types de mammites (Duval J. 1995).

## I.2.3. Etiologie de la mammite :

La grande majorité des mammites bovines est d'origine infectieuse (Durel *et al*, 2004), Généralement une seule espèce bactérienne est responsable de l'infection, très rarement, l'association de deux espèces. (Poutrel, 2004 ; Van de Leemput, 2007).

## Mamelle et Mammite

Germe	Genres	Espèces
Pathogènes majeurs	Streptocoque	Streptococcus agalactiae Streptococcus dysgalactiae sub sp Dysgalactiae Streptococcus uberis, Entérocoques
	Staphylocoques (coagulase positif)	Staphylococcus aureus
	Entérobactéries	Escherichia coli, Klebsiella
	Anaérobies	Arcanobacterium pyogènes
	Pseudomonas	Pseudomonas aeruginosa
	Mycoplasmes	Mycoplasma bovis
	Autre	Mycobactérium bovis Nocardia asteroides
Pathogénie mineurs	Staphylococcus coagulase négative	Staphylococcus capitis Staphylococcus luminis Staphylococcus sciuri Staphylococcus Xylosus

Groupe	Hôte habituel (Vache)	Mammites
Staphylocoques à coagulase Positive (SCP) : <i>S. aureus</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. hyicus</i> .	-Vache : Peau, mamelle (lésions des trayons), amygdale, Vagin. Homme : peau. Autre espèce animale.	Clinique
Staphylocoques à coagulase Négative (SCN) : <i>S. sciuri</i> , <i>epidermidis</i> , <i>S. hominis</i> , etc	-Vache : peau, mamelle, vagin, amygdale, vagin. Homme : peau, mains.	Subclinique parfois clinique

**Tableau 02 : Germes responsables de mammite (Guerin, 2007).**

### **I.2.4.Mécanisme d'apparition de la mammite par *Staphylococcus aureus* :**

*Staphylococcus aureus* est résistant dans le milieu extérieur. Il peut, s'il y a un défaut d'hygiène au moment de la traite ou un dysfonctionnement de la machine à traire, se retrouver dans les gobelets trayeurs (sur le caoutchouc et ses fissures, dans le lait résiduel restant dans les manchons après la traite). La contamination d'une vache à une autre, se réalise par les mains du trayeur ou des lavettes et par gobelets trayeurs. Toutes lésions de trayon, favorisent la multiplication *Staphylococcus aureus*. Après pénétration *S. aureus* dans le canal du trayon, il envahit les canaux galactophores et colonise rapidement les cellules épithéliales (dès 24 heures) (Salat et al, 2007). Il se multiplie plutôt lentement, le pic étant entre 2 et 11 jours, suivant l'animal (Durel et al, 2004).

La concentration en bactéries dans le lait est toujours faible (Durel et al, 2004 ; Salat et al, 2007). Puis il colonise le parenchyme mammaire assez rapidement. Il y est détectable dès 4 jours après inoculation (Salat et al, 2007).

La réaction inflammatoire est lente et souvent modérée (Salat et al, 2007). Parfois, on observe des mammites aiguës avec forte inflammation du quartier et destructions tissulaires irréversibles, conduisant à la perte du quartier et parfois de l'animal (mammite gangréneuse), mais le plus souvent l'évolution est chronique ou plus fréquemment subclinique. Il y a alors formation de micro-abcès dans le parenchyme mammaire qui protègent la bactérie des défenses immunitaires et des traitements antibiotiques (Eicher et al, 2003). Certaines souches sont capables de résister à la phagocytose des macrophages et restent à l'intérieur des lysosomes. Elles forment de petites colonies à faible croissance mais persistantes et pouvant se remultiplier (Durel et al, 2004). La réaction inflammatoire dans ces deux derniers cas est très discrète voire indétectable. Il s'établit une sorte d'équilibre entre la bactérie et son hôte.

Lors de remultiplication de *Staphylococcus aureus*, de nouveaux épisodes cliniques peuvent apparaître mais souvent ils sont asymptomatiques, seuls les taux cellulaires augmentent.

*Staphylococcus aureus* est un germe contagieux, seules très peu de souches sont présents dans un élevage.

### **I.3.Méthode de diagnostic des infections mammaires :**

Ce diagnostic repose sur la mise en évidence des symptômes généraux, locaux et caractéristique de l'inflammation de la mamelle.

## I.3.1. Diagnostic clinique :

### 1. Examen clinique de la glande mammaire :

L'examen clinique de la mamelle et des sécrétions mammaires constitue la base de la démarche pour diagnostiquer la mammite clinique. C'est le moyen le plus simple et le moins onéreux. **(Durel et al, 2003)**

### 2. Examen visuel de la mamelle :

L'inspection commence à distance pour voir attitude et la démarche de la femelle qui peuvent être modifiés si la mamelle est douloureuse, puis apprécie la couleur et le volume de la glande mammaire. Lors de l'inflammation, elle peut devenir rouge. Violacée et noire dans le cas de mammite gangréneuse. On peut avoir des déformations (nodule, Abscès) et des lésions du tégument (Plaies, gerçures, lésions divers des trayons) et de l'orifice du trayon (Microhémorragies...) **(Hanzen et al, 2010)**.

### 3. Examen macroscopique de la sécrétion lacté :

Consiste à apprécier les modifications de la qualité de lait dont la couleur jaune au rouge sombre, odeur d'œuf pourri en cas d'infection par les germe pyogène, la consistance, la viscosité. Examen des premiers jets **(Durel et al, 2003)**.

## I.3.2. Diagnostique Bactériologique :

Cet examen permet un diagnostic de certitude de l'infection mammaire. Il consiste à mettre en évidence et identifier des bactéries pathogènes dans le prélèvement du lait des quartiers infectés, cette méthodologie s'avère très nettement inadapté à une utilisation à grande échelle **(Martel, 1991)** et ne peut pas être systématique en raison des couts et de délais d'obtention des résultats **(Berthelot et Bergonier, 2001)**.

L'examen bactériologique de *S. aureus* sera développé en détail dans la deuxième partie.

## CHAPITRE II : Staphylococcus aureus.

### II.1. Généralité sur les Staphylococcus aureus :

#### II.1.1. Historique :

Staphylocoques ont été observés premièrement par Robert Koch (1876), ensuite reconnu par Louis Pasteur (1880) (**Pasteur, 1877**) Puis en 1883 le chirurgien Sir Alexander Ogston créa nom au genre *Staphylococcus* pour décrire ces grains groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (nom en grec Staphyle). (**Lowy, 1998. Cohen, 1972**).

Le *S. aureus* ou *S. doré* nommé au fait que les colonies ont formé sur des médias riches pleins une couleur d'or, car présente des *caroténoïdes*, en opposition aux colonies pâles, translucides, blanches constituées par CNS. (**Howard and Kloos, 1987; Liu et al., 2005**).

#### II.1.2. Classification:

D'après Euzéby en Bergey's manuel 2002 et NCBI (National center for Biotechnology Information), la nouvelle classification des staphylocoques est la suivante :

- Règne : Bacteria.
- Division : Firmicutes.
- Classe : Bacilli.
- Ordre : Bacillales.
- Famille : Staphylococaceae. Avant (Micrococaceae)
- Genre : Staphylococcus.

Les espèces Staphylococcus est divisé selon la capacité des bactéries de produire ou non la coagulase (enzyme) en deux groupes :

- Staphylocoques à coagulase positive : *S. aureus*, *S. intermedius*.
- Staphylocoques à coagulase négative : *S. epidermitis*, *S. saprophyticus*, *S. hyicus*. Sont des staphylococcus commensaux de la peau. (**Ray and Ryan, 2003**).

# Staphylococcus aureus

---

Coagulase c'est une protéine qui se fixe avec prothrombine sur un site de liaison situé en N-terminal formant un complexe nommé staphylothrombine. Ce complexe va induire une polymérisation du fibrinogène en fibrine et ainsi la formation d'un thrombus donc le sang se coagule. **(Kawabata *et al*, 1985 ; Foster, 1996 ; Ray and Ryan, 2003 ; Toy *et al*, 2008).**

## II.1.3. Habitat :

Les Staphylocoques sont des bactéries très répandues dans la nature, retrouvés dans le sol, les poussières, l'eau et dans certains produits alimentaires. Elles peuvent survivre pendant plusieurs mois dans l'environnement s'ils sont protégés de la sécheresse et la dessiccation. **(Sneath, 1986).**

Les germes Staphylocoques sont des *germes ubiquistes, Commensaux, opportunistes* :

Ubiquistes : Présente des capacités d'adaptation et de résistance. Capable de survivre dans un large éventail d'habitats environnementaux. Ces capacités expliquent en partie la difficulté d'éradication et une bonne résistance aux mécanismes d'épuration naturels (*oxydation, dessiccation donc favorise sa transmission directe mais aussi indirecte*). **(Acha *et al*, 1989 ; Dworkin *et al*, 2006 ; Bohn, mars 2010).**

Commensaux : Très fréquents de la peau et muqueuses des cavités naturelles des mammifères et des oiseaux avec une prédominance dans les narines, le nasopharynx, le tractus intestinal et génital. **(Cohen, 1972; Prescott *et al*, 2003).**

Opportunistes : La plupart des espèces rencontrées sont les Staphylococcus à Coagulase Négative (comme *S. epidermitis*, *S. saprophyticus*), d'autres peuvent être occasionnellement pathogènes comme *S. aureus*. **(Kloos *et al*, 1975; Salyers *et al*, 2002).**

## II.1.4. Transmission :

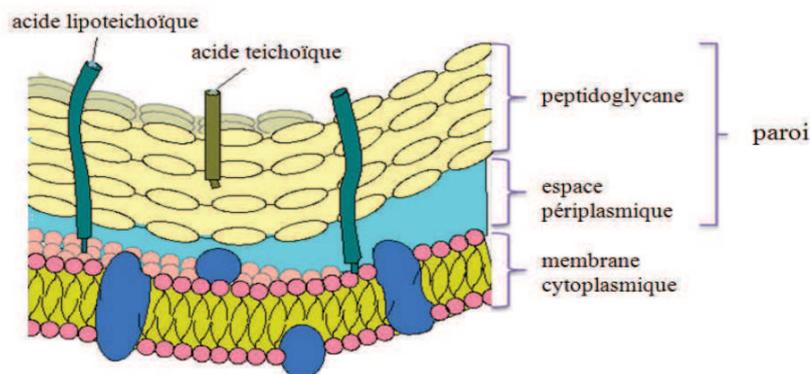
Le *S. aureus* peut se transmettre par contact direct entre les individus ou par contact indirect par l'air, l'eau, la nourriture, vecteurs vivants ou par des surfaces contaminées. Aussi il peut se transmettre à l'humain et vice-versa surtout dans le milieu hospitalier **(Efsa, 2009).**

# Staphylococcus aureus

## II.1.5. Caractères morphologique :

Les *S. aureus* se présentent sous forme de coques à Gram positif (+) de diamètre de 0,5 à 1  $\mu\text{m}$ , sont immobiles, non sporulés, formant les aéro-anaérobie facultatif, comportant une condition alimentaire complexe pour la croissance (**Plata et al, 2009; Wilkinson, 1997**) ne possédant pas de capsule sauf de très rares souches qui sont entourées d'une pseudocapsule (**Le Minor and Veron, 1990**), résistance au chaleur (**Kloos and Lambe, 1991**), une baisse teneur en (G+C) de l'ADN (dans la gamme de 30-40 mol%) (**Foster, 1996**), une tolérance à la concentration élevée de sel (**Plata et al, 2009**).

Les bactéries à Gram positif (+), ne porte pas de membrane externe. La couche de Peptidoglycane est beaucoup plus épaisse (épaisseur de 20 nm à 80nm) où des molécules d'acides teichoïques sont insérées. Présence d'une membrane cytoplasmique.



**Figure 02:** Composition de la paroi des Gram positives (+).

([http://faculty.ksu.edu.sa/shoeib/Pictures%20Library/w/GramPositiveEnvelope\\_gif.jpg](http://faculty.ksu.edu.sa/shoeib/Pictures%20Library/w/GramPositiveEnvelope_gif.jpg)

Consulté le 10 janvier 2013).

## II.1.6. Facteurs de virulence :

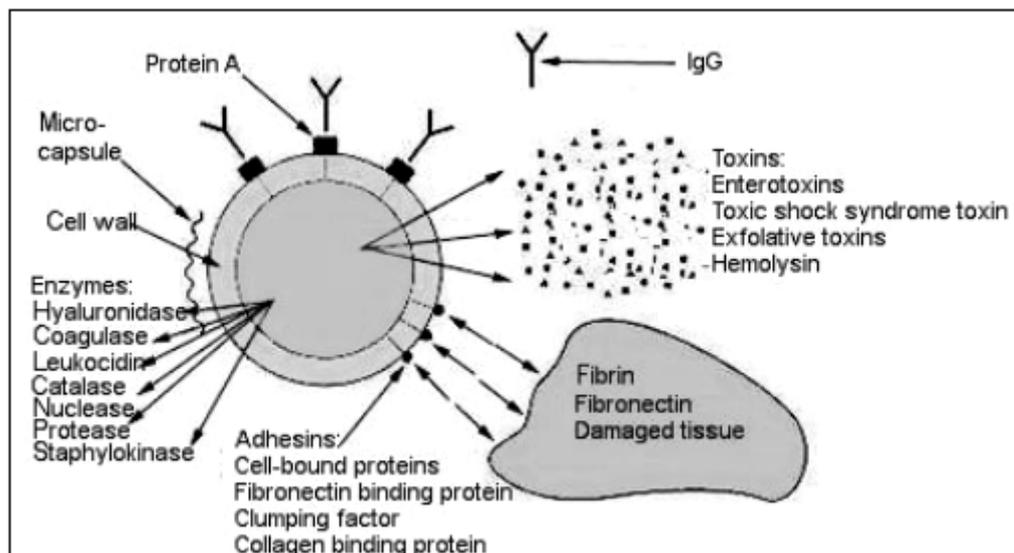
La *S. aureus* est connu de sa capacité de causé une large gamme des infections importantes chez l'homme.

La pathogénie de *S. aureus* est liée à la synthèse des nombreux facteurs de virulence, et sont classés principalement en trois classes (**Euzeby ; Robert, Juin 2013**):

- ❖ La paroi (Le **peptidoglycane** et la **capsule**).
- ❖ Les protéines de surface du *S. aureus* (Les **MSCRAMM**, **SERAM** et la **protéine A** ou **Spa**).
- ❖ Les protéines sécrétées par *S. aureus* ou **toxines**.

# Staphylococcus aureus

La majorité de ces facteurs de virulence est régulée par de nombreux systèmes dont le plus général est appelé Accessory Gene regulator (*Agr*).

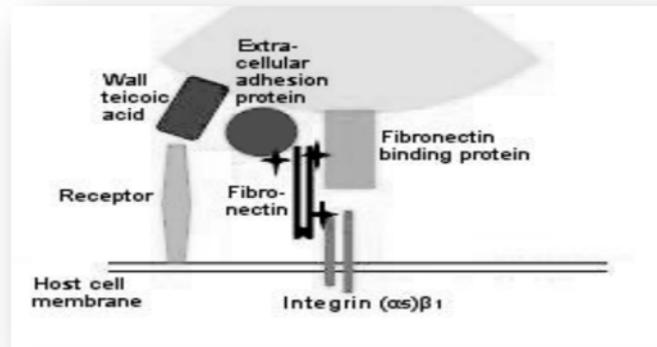


**Figure 03:** Schéma des facteurs de virulence chez *S. aureus*. (Lisa Stark, 2013).

## II.1.6.1. Composants de la paroi et la capsule :

**a. Peptidoglycane :** ce composant de la paroi bactérienne permet la liaison de plusieurs protéines de surface, aussi vont permettre d'adhérer à la surface des cellules pour infecter. Les protéines de surfaces associées au peptidoglycane sont regroupées sous le nom de MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules). (Robert, Juin 2013).

**b. Capsule :** *S. aureus* exprime une capsule qui a un rôle dans la virulence car elle empêche *in vitro* les neutrophiles de la recouvrir lors du phénomène d'opsonisation et possède des exopolysaccharides qui peuvent constituer un biofilm. Ce dernier va enduire les bactéries et former une couche résistante aux globules blancs. 90 % des souches cliniques ont des polysaccharides capsulaires. Des chercheurs ont découvert chez l'animal une augmentation de la virulence des sérotypes 5 et 8 de *S. aureus* liée à la capsule. (Thakker *et al*, 1998; Robert, Juin 2013).



**Figure 04:** Exemple d'un facteur qui provoque l'interaction entre *S. aureus* et la cellule hôte.

(Lisa Stark., 2013).

## II.1.6.2. Protéines de surfaces :

Sont des antigènes, jouent un rôle dans la virulence de *S. aureus*, surtout utiles au début de l'infection afin de faciliter la colonisation des tissus. Ces antigènes incluent les composants extérieurs microbiens identifiant les molécules adhésives de matrice (**MSCRAMM**), les polysaccharides capsulaires et le staphyloxanthin (colorant de caroténoïde) (**Lin and Peterson, 2010; Robert, Juin 2013**).

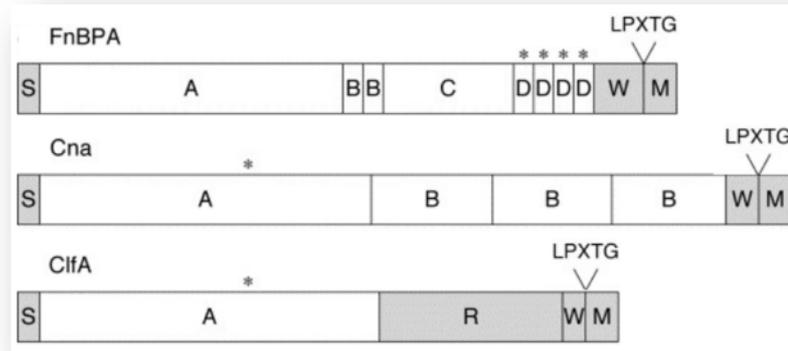
### a) **MSCRAMM :**

Sont des facteurs d'adhésion et elles sont fixées au peptidoglycane de la paroi bactérienne. La liaison entre ces protéines et le peptidoglycane se fait de façon covalente. Ils existent donc plusieurs MSCRAMM et elles ont en commun une structure particulière d'après figure.

En **C-terminal**, se trouve la séquence consensus LPXTG (leucine-proline- acide aminé X- thréonine- glycine). Elle est entourée de régions hydrophobes nommées W et M. La région d'ancrage dans la membrane cytoplasmique de la bactérie se fait par la région M car elle est riche en acides aminés (aa) chargés positivement.

En position **N-terminale**, le peptide signal (S) a la capacité de hisser la protéine synthétisée au niveau de la membrane plasmatique.

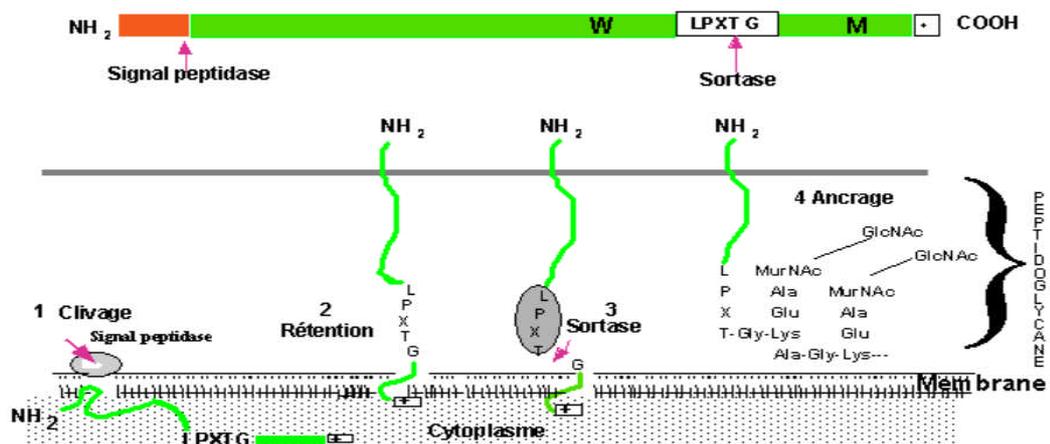
# Staphylococcus aureus



**Figure 05:** Structure de MSCRAMM. (Science Direct, consulté en novembre 2012 ; Robert, Juin 2013).

La figure permet de voir les points communs structuraux entre plusieurs MSCRAMM dont le FnBPA (la protéine de liaison à la fibronectine), le Cna (la protéine de liaison au collagène), et le ClfA (la protéine de liaison au fibrinogène).

Une enzyme, la sortase, s'attaque au motif LPXTG (Leucine-Proline- acide aminé X- Thréonine- Glycine) pour permettre un ancrage des adhésines à la paroi de la bactérie par un mécanisme de transpeptidation (Mazmanian *et al*, 1999).



**Figure 06:** Phénomène de transpeptidation de l'adhésine. (Bisignano C, 2000).

## Staphylococcus aureus

Les antigènes de surface Virulente	Putative fonctions
<p><b>Les MSCRAMM :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- protéine Staphylococcique A (SpA)</li> <li>- Fibronectin-binding proteins (FnbpA and FnbpB)</li> <li>- Collagen-binding protein</li> <li>-Clumping factor proteins (ClfA and ClfB)</li> </ul> <p><b>-Les polysaccharides capsulaires</b></p> <p><b>-Staphyloxanthin</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Un grippage à Ig G, interférant l'opsinisation et phagocytose</li> <li>-Attachement au fibronectine et le plasma coagulant.</li> <li>-Adhérence au tissu collagènes et au cartilage.</li> <li>-Groupement des médiateurs et Adhérence au fibrinogène en présence du fibronectine.</li> <li>-Réduisent la phagocytose par neutrophile ; augmente la colonisation et la persistance bactérienne sur les surfaces muqueuses.</li> <li>-Résistance au réactif neutrophile oxidant-based phagocytosis.</li> </ul>

**Tableau 03:** Facteurs de virulence et les fonctions putatives respectives impliquées dans la pathogénie de *S. aureus*. **(Ana et al, 2013).**

**b) Les SERAM :**

Les SERAM regroupe plusieurs protéines comme Eap (extracellular adherence protein), Efb (extracellular fibrinogen binding protein), Emp (extracellular matrix binding protein) ainsi que la coagulase. Ils peuvent se fixer au fibrinogène, à la fibronectine, à la prothrombine, au collagène, à la laminine, aux sialoprotéines, à l'élastine et à la vitronectine. Elles ont aussi des propriétés immunomodulatrices et impliquées dans la pathogénèse des maladies endos et extravasculaires aiguës ou chroniques **(Chavakis et al, 2005)**. Chaque SERAM a des capacités et des rôles différents.

# Staphylococcus aureus

Virulence factor	Function	Effect on host
Capsular polysaccharides	<p>Alter C3 (capsular polysaccharides (CPS)5 and 8) or C3b (CPS1) deposition</p> <p>Mask C3 (CPS5 and 8) and C3b (CPS1) deposition</p> <p>Microorganisms that cause invasive disease commonly produce extracellular capsular polysaccharides</p>	<p>Capsules enhance microbial virulence by rendering the bacterium resistant to phagocytosis and thereby contribute to the bacterial persistence in the bloodstream of infected hosts</p> <p>Fewer complement molecules are able to bind to capsulated bacteria, which has an antiphagocytic effect</p> <p>The <i>S. aureus</i> capsules also promotes abscess</p>
Coagulase von Willebrand factor binding protein	<p>Binds and activates prothrombin which promotes conversion of fibrinogen to fibrin</p> <p>The staphylocoagulase-prothrombin complex cleaves fibrinogen</p>	<p>Promote coagulation, through binding and activation of prothrombin</p> <p>The generation of fibrin peptides promotes clot formation. The fibrin clot inhibit phagocytosis by preventing the penetration of phagocytic cells into the site of infection</p> <p>Coagulase is an important factor in the formation of abscesses. Abscess formation and blood coagulation cannot occur in mutant mice lacking genes for both Coa and von Willebrand binding protein (vWbp)</p>
Extracellular adhesion protein	<p>Binds to plasma proteins such fibrinogen, fibronectin and protrombin</p> <p>Strong interaction between Eap and the intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 in vitro</p> <p>Impairs angiogenesis and wound healing</p> <p>Major histocompatibility complex II analog protein; adhesion to <i>S. aureus</i> cells and host cells; involved in biofilm formation</p> <p>The vast majority of <i>S. aureus</i> strains seem to secrete Eap but no other staphylococci</p> <p>Binds to ECM molecules</p> <p>Binds to ICAM-1</p> <p>Blocks the lymphocyte function-associated antigen (LFA)-1 and ICAM-1 interaction</p>	<p>Enhances the binding and internalization of <i>S. aureus</i> into eukaryotic cells</p> <p>May inhibit the binding of leukocytes (T-cells) to activated endothelial cells and thereby inhibit the extravasation of leucocytes (monocytes and T-cells) from the bloodstream into the site of infection</p> <p>The binding of Eap to ICAM-1 triggers the release of the pro-inflammatory cytokines TNF-<math>\alpha</math> and interleukin (IL)-6</p> <p>Blocks neutrophils and T cell recruitment</p> <p>Inhibits MAP kinase phosphorylation</p> <p>Inhibits delayed-type hypersensitivity</p>

**Tableau 04:** Les facteurs de SERAM de *S. aureus* et leur effet sur l'hôte. (Lisa Stark., 2013)

## c) Protéines A ou Spa :

Spa est une exoprotéine, elle possède la particularité d'être à la fois sous forme sécrétée ou associée à la paroi. La protéine A est le produit codé par le gène *spa*. Elle est considérée comme une des protéines de surface majeure chez *S. aureus*. Elle possède de nombreux rôles dans les interactions avec l'hôte cible lors d'une infection. Ses nombreuses fonctions sont liées à la structure de la protéine A qui est constituée de cinq domaines homologues extracellulaires désignés E, D, A, B et C (Ruppitsch *et al*, 2006).

## Staphylococcus aureus

C'est à partir de ces 5 domaines que Spa se joint à différentes cibles comme à la fraction Fc des immunoglobulines G (Ig G) et/ou à la fraction Fab des immunoglobulines M (Ig M). Elle est aussi capable d'inhiber l'opsonophagocytose, d'activer le complément et/ou se fixer sur les facteurs de Von Willebrand provoquant des endocardites infectieuses. D'autre part, elle peut aussi stimuler les lymphocytes B et cette activation va selon la concentration de Spa entrainer une anergie ou une apoptose des lymphocytes B (**Silverman et al, 2003**).

### II.1.6.3. Protéines sécrétées ou toxines :

*S. aureus* produit des toxines, des protéines et des enzymes qui ont différentes cibles. En effet, certaines toxines ont plus un tropisme membranaire, d'autres une activité superantigénique et certaines un rôle d'extension du foyer infectieux.

TOXINE	NATURE	EFFET BIOLOGIQUE SUR L'HÔTE
 Hémolysine :		
<i>L'hémolysine Alpha</i>	Protéique thermostable antigénique	-Cytotoxique et cytolytique pour une grande variété de type cellulaire.  -Entraine la production d'antitoxines qui empêchent la fixation sur la membrane.
<i>L'hémolysine Beta</i>	Phospholipide de type C	-Active sur les sphingomyélines d'où le nom de sphingomyélinase type C.  -Activité hémolytique
<i>L'hémolysine Gamma</i>	Deux facteur I et II agissant en synergie.	-Hémolyse.  -La rupture lysosomiale.
<i>L'hémolysine Oponine</i>	Protéine thermostable et hydrophobe	-Détergent sur les membranes plasmiques.  -Active sur les érythrocytes, les macrophages et les granulocytes.
 Exfoliatines ou	Deux protéine A et B	-Responsable de staphylococcies

## Staphylococcus aureus

Epidermolysine		cutanées. -Entraîne un clivage intra épidermique.
 Leucocidine de Panton Valentine.	Composant S et F agissant en synergie.	-Activité biologique spécifique sur les granulocytes les macrophages et les basophiles. -Effet toxique sur les leucocytes du à une modification de perméabilité cationique.
 Entérotoxine	Protéine thermostable résiste aux enzymes protéolytiques.	-Manifestation clinique digestive (intoxication alimentaire)
 Toxine de syndrome de choc toxique staphylocoque TSST-1.	Protéine super antigénique, sensibles aux enzymes protéolytiques.	-Production des toxines pyogènes.

**Tableau 05:** Les principales toxines produites par *S. aureus*. (Nair *et al*, 2000 ; Lisa Stark, 2013).

### II.2.Diagnostic Bactériologique du *S. aureus*:

Le diagnostic est basé sur réaliser des essais avec des colonies. Des essais pour grouper le facteur, la coagulase, les hémolysines et la désoxyribonucléase thermostable sont par habitude employés pour identifier *S* doré.

Sur les cultures en milieu solide on observe une nappe homogène de coque avec un mode de regroupement caractéristique en « grappe de raisin ». Alors qu'en milieu liquide ils sont souvent isolés en diplocoques ou en très courts chainettes. (Fauchere and Avril, 2002 ; Ferron, 1984 ; Kloos and Bannerman, 1994).

# Staphylococcus aureus

---



**Figure 07:** Coloration en Gram de *S. aureus*. (Marco Silva, consulté en novembre 2012).

## II.2.1. Caractère culturaux :

*S. aureus* est une bactérie à croissance aéro-anaérobie facultatifs il est confirmé si la bactérie est cultivé sur une gélose profonde en tube et pousse bien sur les milieux ordinaires à température de 10 et 45 °C. La température optimale de croissance se situe entre 35°C - 37°C et le PH optimal est de 7,5 mais de grandes variations sont tolérées. Certains facteur de croissance sont disponibles (vitamine B1, acide nicotinique) (Fasquelle, 1974, Couture, 1990).

En bouillon la culture est rapide, en 24h on observe un trouble homogène puis dépôt et un voile pelliculaire en surface. (Kloos and Bannerman, 1975).

## II.2.2. Milieux d'isolement utilisés :

Commencent par des milieux non sélectifs :

Sur *gélose nutritive* on obtient des colonies arrondies bombées luisantes opaques à bords réguliers, pigmentées après 24-36 heures, de 1 mm de diamètre. Alors dans *le milieu gélose au sang* les colonies sont de plus grand diamètre que celle produites sur gélose nutritive et elles donnent une double zone d'hémolyse. (Prescott L-M *et al*, 2003 ; Cohen, 1972).

Puis utilisé milieu sélectif :

*Le milieu de Chapman* est particulièrement utilisé, il ne laisse croître que les Staphylocoques au bout de 24 à 48 heures, germe halophiles qui tolèrent des concentrations élevées de NaCl jusqu'à 7,5% (qui inhibe pour cette raison la plupart des autre germes). Les *S. aureus* forment des colonies luxuriantes et s'entourent en 24-48 heures d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol. (Avril *et al*, 1992; Fasquelle, 1974).

# Staphylococcus aureus

## II.2.3. Caractère biochimiques :

Les caractères préliminaires d'identification pour les Staphylocoques sont :

Catalase (+) qui va décomposer l'eau oxygénée  $H_2O_2$  et Oxydase (-) et il fermente le glucose sans gaz, d'autres caractères sont recherchés : indole (-), acétoïne (+), Uréase (+), réduction du téllurite de potassium (+). (**Freney et al, 2007**).

Caractère d'identification	S. aureus
Coagulase (Libre ou liée)	+
Acidification de mannitol	+
Réductase de nitrate	+
Production de toxines	+
Protéine A	+
Sensibilité à la Novobiocine	+
Glucose	+
Lactose	+
Indole	-
Uréase	+
ADH	+
Oxydase	-
Catalase	+
Thermonucléase (Désoxyribonucléase)	+

**Tableau 06:** Caractère d'identification de S. aureus. (Résumé) (**Guiraud et Rosec, 2004**).

## Chapitre III : Les Antibiotiques et Antibiorésistance

### III.1. Antibiotiques :

#### III.1.1. Définition :

Les antibiotiques sont des substances d'origine biologique synthétique ou semi-synthétique dont l'effet thérapeutique se manifeste à très faible dose et de manière spécifique par l'inhibition sélective des certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer d'effets toxiques. **(UFDCQC ; Euzeby, 2005; Nauciel et Vildé, 2008)**

#### III.1.2. Activité des antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent avoir une action *bactéricide* dont il se traduit par la réduction du nombre initial des bactéries, ou peut être *bactériostatique* en empêchant ou ralentissement temporaire de la croissance bactérienne par antibiotique. **(Prescott *et al*, 2003; Nauciel et Vildé, 2008; Yani, 2003)**, dont l'effet est réversible dès l'arrêt de l'antibiothérapie donc la croissance des micro-organismes reprend. **(Helali, 2002; Nauciel et vildé, 2008)**

Pour un antibiotique donné, l'activité antibactérienne ne n'exerce que vis-à-vis de certaines espèces bactériennes, ce qui définit le spectre d'activité **(Nauciel et Vildé, 2008)**

Un antibiotique est dit large spectre s'il est actif sur de nombreuses espèces bactériennes, et il est dit à spectre étroit s'ils sont exercés sur un nombre limité d'espèce.

Au laboratoire, la mesure de l'activité d'un antibiotique repose sur 2 grandeurs :

La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique est la concentration la plus faible capable d'empêcher le développement ou la croissance d'un microorganisme particulier après un temps de contact de 12 à 18 heures (activité bactériostatique).

La concentration minimale létale ou bactéricide (CML ou CMB) d'un antibiotique est la concentration la plus faible capable de tuer le microorganisme, laisse un faible pourcentage des bactéries.

Survivantes après un temps de contact de 12 à 18 heures, Ce pourcentage est usuellement fixé à 0,01% en France **(Briand non Michel, 1991 ; Caillon, 2009)**.

### III.1.3. Modes d'action des principales familles d'antibiotique :

La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques de la bactérie, entraînant ainsi la perturbation de diverses réactions métaboliques qui est propre à chaque famille d'antibiotiques. **(Page et al, 1999 ; Poyart, 2002 ; Nauciel et Vildé, 2008)**

Les modes d'action des principaux antibiotiques sont résumés dans *l'Annexe IV (Delery, 1999)*.

Chaque famille d'antibiotiques possède un mécanisme d'action qui lui est propre mais on peut résumer leurs actions en trois grandes catégories spécifiques qui sont :

#### III.1.3.1. Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi :

Il existe chez les bactéries le peptidoglycane qui assure la rigidité de la paroi. Les précurseurs du peptidoglycane sont synthétisés dans le cytoplasme et assemblés à l'extérieur de la membrane cytoplasmique. Et lorsque les bactéries sont en phase de croissance, il existe simultanément des phénomènes de synthèse et de destruction du peptidoglycane, L'équilibre entre ces deux phénomènes est rompu par les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane. Il en résulte une altération de la paroi ayant un effet létal pour la bactérie. **(Neal, 2007 ; Nauciel et Vildé, 2008)**

- **Bêta-lactamine :**

Les  $\beta$ -lactamines agissent sur la paroi bactérienne, plus précisément sur les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP sont des protéines à activité enzymatique (essentiellement des transpeptidases) impliquées dans la synthèse de la paroi **(Eveillard, 2007)**. Elles sont situées sur la face externe de la membrane cytoplasmique. Cette fixation covalente entre *les PLP et les  $\beta$ -lactamines* induit un blocage des réactions de transglycosylation et transpeptidation consécutif à l'acylation des PLP par la  $\beta$ -lactamines, ainsi qu'une stimulation de l'activité des auto-lysines (enzymes impliquées dans le renouvellement de la paroi). **(Drugeon, 2006)**

Les souches de *Staphylococcus aureus* possèdent 4 PLP : PLP1, PLP2, PLP3 sont essentielles à la survie et PLP4 sont les accessoires. **(Chambers, 2001)**. Les  $\beta$ -lactamines ont, vis-à-vis de *S. aureus*, une activité bactéricide dont l'action des bêta-lactamines sur les bactéries à Gram positif est de prévenir les liens les peptidoglycanes, et également

## Antibiotiques et Antibiorésistance

---

au relâchement de l'acide lipotéichoïque, ce qui conduit à des enzymes autolytiques participant à l'action bactéricide. **(Poole, 2004 ; Nauciel et Vildé, 2008).**

- **Glycopeptides :**

Ces molécules agissent sur le peptidoglycane des bactéries. En effet, elles se lient avec le dimère D-alanyl-D-alanine qui est en position terminale de la chaîne pentapeptidique du peptidoglycane. Cette fixation masque les sites d'action des transpeptidases et empêche la réaction de transglycolisation lors de la synthèse du peptidoglycane. La bactérie ne peut donc plus renouveler son peptidoglycane, donc elle finit par mourir **(Pr Rabaud, consulté en décembre 2012)**. Ces antibiotiques sont bactéricides vis-à-vis de *S. aureus*.

### III.1.3.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique :

- **Aminoglycosides ou aminosides :**

Ces molécules agissent sur la traduction des acides ribonucléiques messagers (ARNm) et la synthèse des protéines. Après avoir pénétré de façon passive dans la bactérie, elles interfèrent ainsi avec la sous-unité 30S des ribosomes qui joue un rôle dans la synthèse peptidique en lisant l'ARNm. On obtient ainsi des protéines dites «non-sens» qui entraînent la mort bactérienne.

Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides rapides et puissants et présentent un effet post-antibiotique (c'est-à-dire que la durée d'activité est beaucoup plus importante que le temps d'exposition). **(Moulin et Coquerel, 2002; Dorosz et al, 2011 ; Robert, Juin 2013)**

- **Tétracyclines :**

Ces antibiotiques agissent au niveau de la sous-unité 30S du ribosome en inhibant l'élongation peptidique. Ils ont une action bactériostatique envers le *S. aureus*. **(Robert, Juin 2013).**

Les tétracyclines ont été utilisées abondamment comme facteur de croissance en médecine vétérinaire, plus particulièrement chez les animaux de production. Les doses sous optimales employées à cette fin ont favorisé le développement de résistance chez les bactéries. **(Giguère, 2006).**

- **Macrolides-Lincosamides et Synergistines (MLS) :**

Ces antibiotiques se fixent sur la fraction 50S des ribosomes et inhibent ainsi la synthèse protéique. Cette interaction induit un blocage du complexe aminoacyl-ARNt et les acides aminés apportés par l'ARN de transfert ne s'incorporent plus aux chaînes polypeptidiques. La synthèse protéique ne pouvant plus se réaliser, la survie de la bactérie est compromise. Les MLS sont des antibiotiques bactériostatiques, sauf les synergistines qui sont bactéricides car agissant de manière synergique vis-à-vis des *S. aureus*. (Robert, Juin 2013 ; Tenson et al., 2003 ; Neal, 2007 ; Nauciel et Vildé, 2008).

### III.1.3.3. Antibiotiques inhibant la synthèse de l'ADN :

- **Quinolones :**

Ces antibiotiques ont comme cible la synthèse des acides nucléiques. Ils agissent sur une enzyme qui permet de déplier l'ADN qui est « surenroulé », ces enzymes sont appelées topoisomérases ou ADN gyrases. Les fluoroquinolones vont interagir avec les complexes ADN/topoisomérases et inhibent cette activité indispensable à la réplication et à la survie de la bactérie. Ces molécules ont une activité bactéricide concentration-dépendante vis-à-vis de *S. aureus*. (Walker et al, 2006 ; Higgins et al, 2003 ; Naciel et Vildé, 2008 ; Robert, Juin 2013).

### III.1.3.4. Antibiotiques inhibant la synthèse du folate :

- **Sulfamides et Triméthoprime :**

Ces différentes molécules sont impliquées directement dans la synthèse des folates (processus important dans le métabolisme bactérien).

Normalement, l'acide para amino benzoïque (PAB) doit subir l'intervention de la dihydroptéroate synthétase pour obtenir la synthèse des dihydrofolates, donc les sulfamides vont entrer en compétition avec PAB car ils ont une structure moléculaire analogue. Cette compétition va enrayer l'action de la dihydroptéroate synthétase (DHPS) et ainsi la synthèse est bloquée. Le Triméthoprime exécute son intervention en aval des sulfamides, il neutralise la dihydrofolate réductase (DHFR) et stoppe la synthèse des folates. (Pr Benyoussef. consulté en décembre 2012 ; Robert, juin 2013).

## Antibiotiques et Antibiorésistance

Les sulfamides sont des antibiotiques bactériostatiques mais leur association avec le Triméthoprimé rend leur activité bactéricide, les deux molécules agissant en synergie. **(Robert D, juin 2013).**

### III.1.4. Antibiotiques anti-staphylococciques :

Les principaux antibiotiques utilisés pour le traitement des infections à staphylocoques sont : Bêta-lactamines, Aminosides, Quinolones surtout deuxième génération, Macrolides-Lincosamides-Streptogramine, Glycopeptides, L'association Sulfamides + Triméthoprimé, et les Non classé.

Les macrolides comprennent des molécules comme l'érythromycine, actives particulièrement contre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*. **(Pierre Chevalier, Juillet 2012).**

La famille d'antibiotique	Les antibiotiques
<b>Les bêta-lactamines</b>	<b>Pénicillines M</b> : Méthicilline, Cloxacilline et Oxacilline <b>Céphalosporines</b> : Céfoxitine
<b>Aminosides</b> (Utilisée en association avec les bêta-lactamines)	Kanamycine, Tobramycine, Amikacine et Gentamicine
<b>Quinolones</b>	Péfloxacine, ofloxacine et Ciprofloxacine.
<b>Macrolides-Lincosamides-streptogramine</b>	<b>Macrolides</b> : Erythromycine. <b>Lincosamides</b> : Lincomycine, Clindamycine. <b>Streptogramine</b> : Pristinamycine.
<b>Glycopeptides</b>	Vancomycine
<b>L'association Sulfamide + Triméthoprimé.</b>	Sulfaméthoxazole + Triméthoprimé (Cotrimoxazole)
<b>Non classé</b>	Novobiocine Fosfomycine Acide fusidique

**Tableau 07:** Les principaux anti-staphylococcique. **(Choucair, 2008).**

## Antibiotiques et Antibiorésistance

---

Les antibiotiques sont en fait le seul groupe des médicaments qui, lorsqu'administrés à quelques individus, peuvent avoir un impact sur des populations entières. **(Weiss, 2011 ; Pierre Chevalier, Juillet 2012)**. Le risque de développement la résistance sera d'autant plus important quand l'usage sera fréquent (en continu ou répété) et étendu à une forte proportion d'un troupeau. **(McEwen 2002 ; Pierre Chevalier, Juillet 2012)**.

## III.2. La résistance aux antibiotiques :

### III.2.1. Définition de la résistance bactérienne :

La capacité du micro-organisme d'une certaine espèce à survivre ou même à se développer en présence d'antibiotique, lorsque la concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce. Il est considéré résistant à un antibiotique. (Fauchere *et al*, 2002 ; l'OMS).

L'OMS définit une souche résistante aux antibiotiques comme « une souche qui supporte une concentration d'antibiotiques notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce » ou « une souche qui supporte une concentration notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre *in vivo* ». (OMS consulté en janvier 2012)

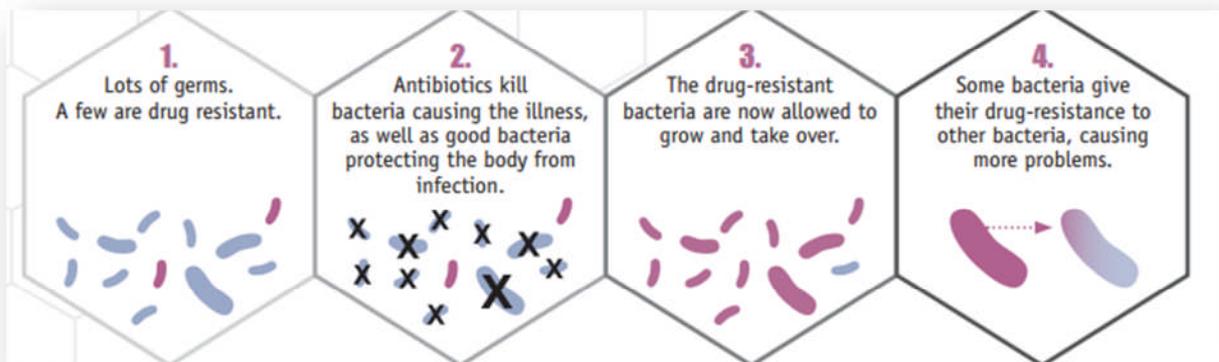


Figure 08: comment l'antibiorésistance se déroule. (Frieden, 2013)

### III.2.2. Type de résistances :

La résistance d'une bactérie vis-à-vis à un antibiotique ou un nombre d'antibiotique peut être naturelle (ou intrinsèque) ou acquise.

# Antibiotiques et Antibiorésistance

## III.2.2.1. Résistance naturelle :

L'espèce est alors caractérisée par son insensibilité naturelle à un antibiotique particulier. Cela peut résulter de l'incapacité de l'antibiotique à pénétrer dans la cellule (Paroi bactérienne imperméable) et atteindre sa cible, d'un manque d'affinité entre l'antibiotique et son site d'action, ou de l'absence de cible cellulaire. **(Alami *et al*, 2005 ; Nauciel et vildé, 2008).**

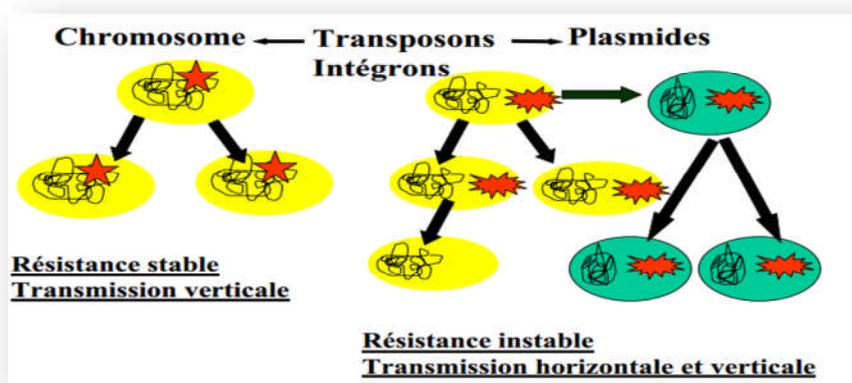
Elle est présentée chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien, déterminant les phénotypes « sauvages » des espèces bactériennes. Elle est liée à son patrimoine génétique. Elle est stable et transmissible à la descendance mais pas ou peu transmissible sur un mode horizontal. **(Courvalin, 2008).**

## III.2.2.2. Résistance acquise :

L'espèce est normalement sensible à un antibiotique mais certaines souches expriment une résistance à un ou des antibiotiques données grâce à plusieurs mécanismes biochimique qui normalement est suffisante pour inhiber ou tuer des bactéries de la même espèce. **(Delery, 1999 ; Alami *et al*, 2005).**

## III.2.3. Supports génétiques des mécanismes de la résistance :

Le support génétique, il est essentiel car il donne la fréquence de la résistance dans une population bactérienne donnée (conditionne sa faculté de propagation).



**Figure 09:** Localisation des gènes de résistance **(Archambaud, Mars 2009).**

## Antibiotiques et Antibiorésistance

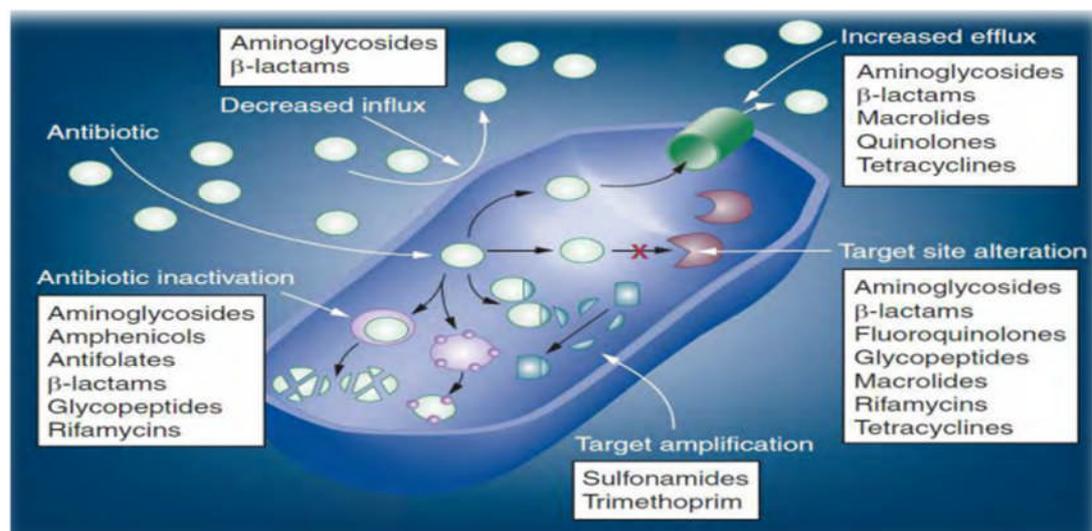
Les gènes qui codent pour les mécanismes de résistance peuvent faire partie du patrimoine chromosomique de la bactérie ou appartenir à un élément *mobile*, *plasmide*, *transposon* ou *intégrons*. Dont il transmise à la descendance de la cellule bactérienne (transmission verticale) mais en générale elle est peu ou pas transférable horizontale.

La résistance dont le support génétique fait partie d'un élément mobile acquis est transmise à la descendance de la cellule mais a tendance à être instable en absence de facteur de sélection représenté par le ou les antibiotiques concernés. Ce type de résistance a cependant l'avantage d'être transférable d'une bactérie à l'autre et de coder pour des multirésistances (**Delery, 1999**).

### III.2.4. Mécanisme de résistance aux antibiotiques :

Il existe deux hypothèses sur l'origine des mécanismes de résistance :

Les microorganismes producteurs des antibiotiques naturels (*Streptomyces*, champignon) sont la première source probable de gènes de résistance pour les autres espèces. L'Autre hypothèse possible c'est l'évolution des gènes de métabolisme bactérien détournés de leur fonction initiale pour contrer l'action des antibiotiques. (**Jarlier, 1997**).



**Figure 10:** Les mécanismes de la résistance aux antibiotiques (**Schmieder and R. Edwards, 2012**).

#### ❖ Modification de l'antibiotique :

De nombreuses souches résistantes fabriquent des enzymes qui détruisent ou modifient la molécule d'antibiotique la rendant inactive. (**Leclercq, 2004**).

## Antibiotiques et Antibiorésistance

---

### ❖ **Modification de la cible de l'antibiotique :**

Des modifications de la structure native de la cible de l'antibiotique peuvent rendre la cible de l'antibiotique inaccessible ou non reconnaissable et être à l'origine de la résistance.

### ❖ **Réduction de la perméabilité membranaire :**

Les porines sont des protéines membranaires formant des canaux à travers lesquels certaines antibiotiques peuvent pénétrer. Les bactéries peuvent résister en réduisant le nombre des porines. (**Prescott et al, 2003**).

### ❖ **Efflux des antibiotiques :**

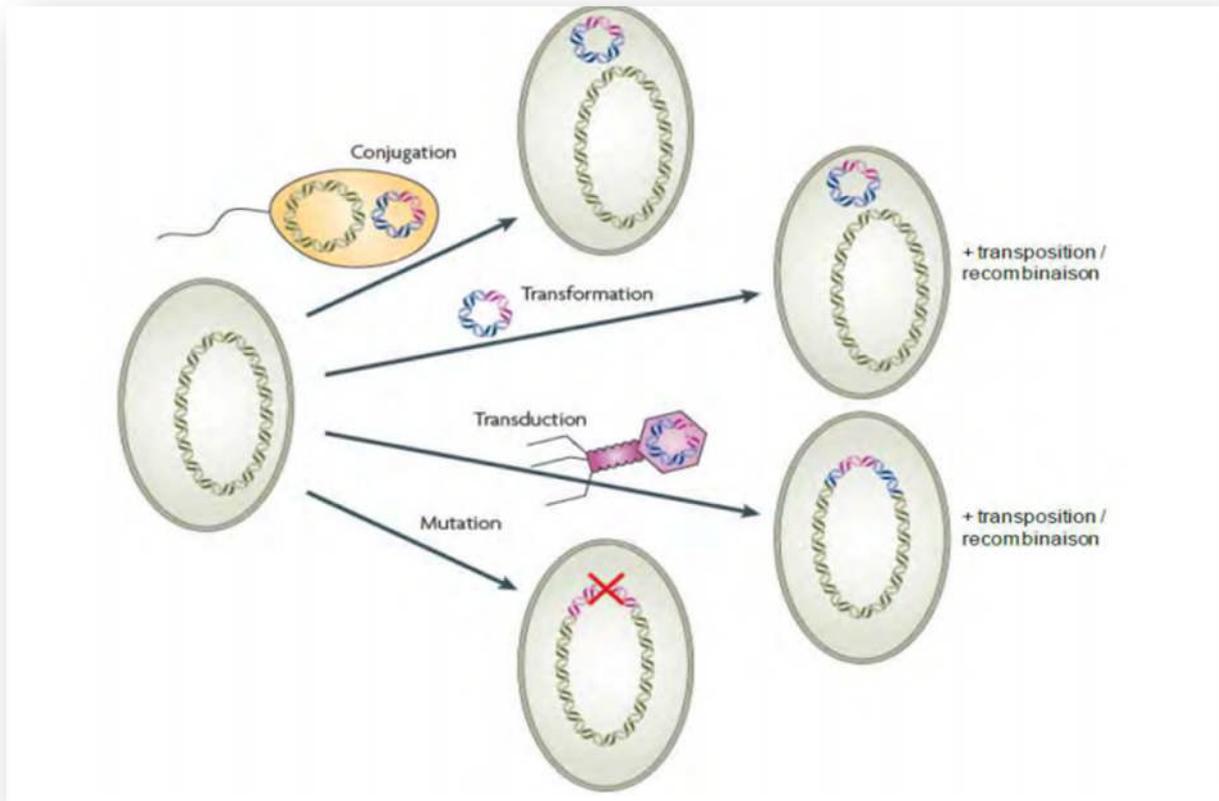
Après avoir pénétré à l'intérieur de la bactérie, l'antibiotique peut être rejeté à l'extérieur par un système de transport membranaire actif appelé pompe d'efflux. (**Leclercq, 2002**).

### 🚩 **Acquisition de la résistance :**

La résistance peut être acquise de manière endogène par mutation ou de manière exogène par transfert génétique. (**Courvalin, 1997**).

-Les mutations qui résultent d'une modification spontanée, ponctuelle et rare d'un locus d'un chromosome bactérien (qui contrôle la sensibilité à un antibiotique donné), en terme de dissémination, il est caractérisé d'être héritées de façon stable par la descendance.

-Les bactéries peuvent aussi échanger de l'ADN grâce à trois mécanismes génétiques propres aux bactéries : la transformation, la conjugaison, la transduction.



**Figure 11:** principe de l'acquisition à la résistance aux antibiotiques adapté de Nature, et les trois (3) modes de transmission génétique. (Berche, 2003 ; Anderson *et al*, 2010).

-La dissémination de la résistance aux antibiotiques dans les conditions naturelle est fréquemment due à une combinaison de mécanismes de transfert de gènes.

-La *transformation*, acquisition d'ADN nu, est vraisemblablement limitée au transfert entre genre bactérien étant donné que l'ADN entrant est stabilisé chez la cellule receveuse par recombinaison homologue.

-La *conjugaison*, deux type d'éléments génétique sont autotransférables : les plasmides et les transposons. Les *plasmides* «Conjugatifs» transfèrent efficacement entre les bactéries à Gram positif ou à Gram négatif appartenant à des genres différents. Les transposons « Conjonctifs» sont des éléments génomiques de structure compacte avec un spectre d'hôte de transfert très large qui comprend de nombreuses a Gram positif mais également des bacilles à Gram négatif, dans le génome desquels ils s'intègrent à de haute fréquences.

## Antibiotiques et Antibiorésistance

---

-La *transduction* est un mécanisme de transfert de l'ADN par l'intermédiaire d'un virus bactérien ou bactériophage. Ce mécanisme est jusqu'à présent le moins étudié.

### III.2.4.1. Résistance aux Bêta-lactamines :

La résistance aux Bêta lactamine chez la *Staphylococcus* est principalement relié à la production de bêta-lactamases et de façon secondaire à l'altération des PLPs «Protéine Liants la Pénicilline» et/ou à l'acquisition des nouvelles PLPs. **(Poole, 2004)**.

Selon leurs séquences d'ADN, les gènes codant pour les bêta-lactamases sont divisées en 4 classes, appelées les classes Ambler, allant de A à D.

Le premier mécanisme de résistance à un antibiotique par *S. aureus* c'est la production de  $\beta$ -lactamases. La pénicillinase plasmidique est une protéine enzymatique capable d'hydrolyser le cycle  $\beta$ -lactame, donc de rendre inapte l'antibiotique. Ces enzymes ne sont pas capables d'inactiver les pénicillines M (Résister à l'hydrolyse) et les céphalosporines. De plus, il existe des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) qui restaurent l'activité des antibiotiques qui leur sont associés. La pénicillinase staphylococcique est le produit d'expression du gène *blaZ* qui est porté par un plasmide ou un transposon. **(Robert, Juin 2013, Lambert, 1999)**.

### III.2.4.2. Résistances à la méticilline :

Il s'agit d'une résistance acquise par modification de la cible principale de nombreuses  $\beta$ -lactamines, la PLP2. La nouvelle PLP2a produite a une faible affinité vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines. Cette résistance est à considérer comme croisée pour l'ensemble des  $\beta$ -lactamines mais son expression peut être hétérogène au sein d'une même souche. Ils existent quatre classes d'expression (classes I, II, III et IV) **(Tomasz et al, 1991; Poole, 2004)**. La PLP2a possède la capacité de catalyser seule l'assemblage du peptidoglycane lorsque les autres PLP sont inactivées par les  $\beta$ -lactamines. D'un point de vue génétique, la PLP2a est codée par le gène *mecA* se trouvant sur un fragment d'ADN additionnel présent chez les SARM et absent chez les SASM. Le gène appartient à la famille des cassettes chromosomiques staphylococciques *mec* (*SCCmec*) **(Katayama et al, 2000)**.

Les SARM ont été décrits la première fois en Europe continentale, puis en Amérique et ailleurs dans le monde entier **(Brun et al, 2000)**. Ces bactéries sont à l'origine d'infections nosocomiales

sévères mais aussi de pathologies communautaires (**Lowy, 1998 ; Chambers, 2001 ; Brien et al, 2004**).

Dès les années 80, les SARM sont considérés comme une importante problématique clinique et épidémiologique dans les hôpitaux aux USA (**Boyce, 1990 ; Mulligan et al, 1993**) mais aussi dans d'autres régions du monde. Ceci a été à l'origine, en France, de la mise au point d'un suivi de la prévalence des SARM par l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA) (**Bertrand et al, 2001**).

Un variant du gène *mecA*, le gène *mecC* a été récemment mis en évidence dans les souches de SARM humaines et animales en France et dans toute l'Europe (**Laurent et al, 2012 ; Garcia-Alvarez et al, 2011**). Mais la recherche de la résistance à la méticilline peut être mise en défaut avec certaines méthodes d'étude phénotypique de la résistance.

### III.2.4.3. Résistance aux Aminosides :

Les bactéries peuvent acquérir une résistance aux aminoglycosides qui peut se faire selon quatre mécanismes distincts : altération de la cible, interférence avec le transport de l'antibiotique, inhibition enzymatique de l'antibiotique ou la substitution de la cible. (**Veyssier, 1999**).

La résistance est apportée par des transposons ou des plasmides. Pour contrecarrer l'action des aminosides, *S. aureus* possède des enzymes dont l'inactivation enzymatique est le type de résistance le plus souvent observé comme l'aminoglycoside phosphotransférase. Cette enzyme va greffer sur l'antibiotique un radical phosphoryl qui annihile l'antibiotique. Il existe d'autres enzymes comme l'aminoglycoside adényltransférase AAD ou l'enzyme fonctionnelle AAC qui va rajouter des radicaux aux aminosides. (**Lambert, 1999; Robert, Juin 2013**).

### III.2.4.4. Résistance aux tétracyclines :

Dans le système la tétracycline ne peut pas atteindre sa cible qui est le ribosome. (**Chopra et al, 2001**).

Il existe deux types de résistance aux tétracyclines. La première est liée à un plasmide (le plus connu est pT181), elle entraîne un efflux actif des tétracyclines grâce à des protéines Tet situées dans la membrane interne. La seconde résistance entraîne une protection des sites

## Antibiotiques et Antibiorésistance

---

actifs du ribosome par d'autres protéines Tet. La protéine Tet(K) est une des protéines qui entraîne l'expulsion des tétracyclines et les protéines Tet(O) ou Tet(M) vont elles, protéger les sites actifs ribosomiaux (**Taylor et al, 1995 ; Michel-Briand, 2002 ; Dorosz et al, 2011**).

D'autres mécanismes et notamment un système de « protection de ribosome » par l'intermédiaire d'une protéine cytoplasmique semble être très répandu chez les Gram positive, chez les *Neisseria sp*, *Haemophilus sp*, *Bacteroides sp* et chez les mycoplasmes. (**Chopra et al, 2001**).

### III.2.4.5. Résistance aux Macrolides, Lincosamides et Streptogramine :

Le mécanisme principale de résistance aux **MLS** est une modification de la cible de l'antibiotique par méthylation de l'ARN ribosomal. La méthylation est codée par les gènes *erm* (érythromycine résistance méthylase) d'origine plasmidique. La méthylation a lieu sur le résidu en position 6 spécifique dans le domaine V de l'ARN ribosomal 23S (**Etienne, 1999**).

Le mécanisme de résistance le plus connu est une modification de la cible ribosomale. La partie ribosomale est modifiée par une attaque enzymatique, l'adénine en position 2058 de l'ARNr 23S se retrouve alors méthylée. Les enzymes en cause sont des méthylases codées par des gènes de la famille *erm* (erythromycin resistance methylase). La méthylation empêche la fixation du MLS et son action. Cette résistance peut être inductible (induite en présence de macrolides) ou constitutive (exprimée en permanence). Elle ne touche pas les streptogramines A, c'est pourquoi la pristinamycine reste active, même en cas de résistance constitutive. (**Robert, Juin 2013**).

### III.2.4.6. Résistance aux glycopeptides :

Les deux antibiotiques présents dans la famille des glycopeptides sont la vancomycine et la teicoplanine.

La résistance des *S. aureus* est liée à une diminution de la pénétration des glycopeptides dans la bactérie. Le D-alanyl-D-alanine se retrouve en abondance dans la paroi du staphylocoque et est capable de piéger et d'immobiliser les molécules d'antibiotiques lors de la phase de pénétration. Cette résistance est due à une anomalie de la biosynthèse du peptidoglycane et est connue chez les souches glycopeptide-intermediate *S. aureus* (GISA) ou vancomycine-

## Antibiotiques et Antibiorésistance

---

intermediate *S. aureus* (VISA). Une autre résistance plus rare est connue chez les souches vacomycin-résistant *S. aureus* (VRSA). La chaîne pentapeptidique du peptidoglycane change dans sa partie terminale. On retrouve un dimère D-alanyl-D-lactate et l'antibiotique présente une très faible affinité avec ce nouveau dimère terminal **(Lowry, 2003 ; Pr Rabaud. consulté en décembre 2012 ; Robert, Juin 2013).**

### III.2.4.7. Résistance au sulfamide en association avec Triméthoprimine :

La résistance à cette classe antibiotique peut trouver sa cause dans divers mécanismes. Une imperméabilité aux antibiotiques d'origine chromosomique ou plasmidique, une augmentation significative de DHPS ou de DHFR par hyperproduction, enfin la présence de DHPS ou de DHFR distincts (acquis par un gène plasmidique ou par suite de mutation génique) ne subissant pas l'action des antibiotiques. **(Robert, juin 2013).**

### III.2.5. Evolution de résistance de *S. aureus* envers les antibiotiques :

L'historique de l'évolution de l'antibiorésistance en médecine vétérinaire est très peu détaillé. La plupart des données de la littérature faisant état de ce phénomène sont plutôt basées sur médecine humaine.

L'antibiorésistance est un sujet d'intérêt récent en médecine vétérinaire et est fortement lié à d'impact direct sur l'être humaine.

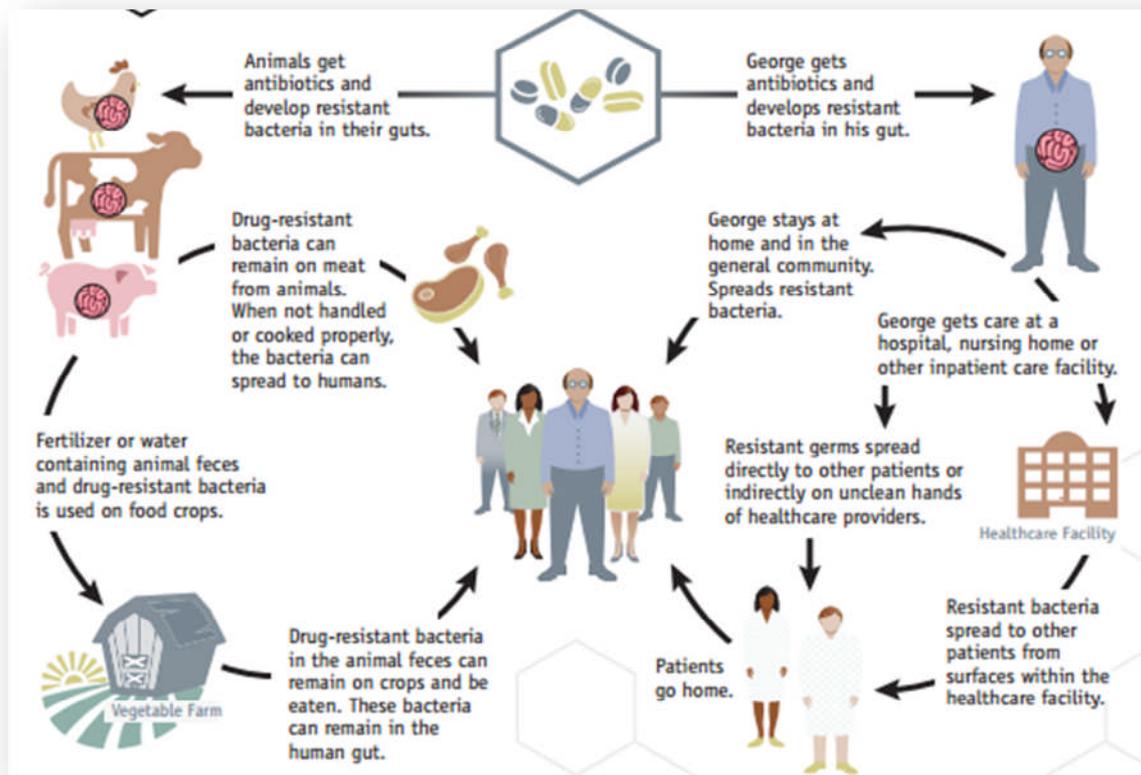


Figure 12: Exemple de propagation d'antibiorésistance. (Frieden, 2013).

### III.2.5.1. Situation en médecine humaine :

En premières années, on a généralement observé des infections de *S. aureus* Dans les individus avec une histoire d'exposition aux hôpitaux (David and Daum, 2010). Il y a eu une transition épidémiologique importante depuis le milieu des années 90. Voici quelque notion d'évolution de la résistance :

Les  $\beta$ -lactamines ont été les premiers antibiotiques découverts. Elles ont été isolées à partir d'un *Penicillium* ils ont été utilisés pour contrer toutes les maladies infectieuses à partir des années 40, il a créé une véritable révolution. Disponible sous forme de poudre applicable topiquement ou sous forme de solution à inhaler.(Poole, 2004) .Deux ans à peine après sa mise en marché, 6% des souches de *S. aureus* isolées dans les hôpitaux étaient résistantes à la pénicilline. En 1948, la proportion de souche résistantes était de 50% et quelque année plus tard il est d'ordre des 80-90%. (UFDCQC) ; le SARM est résistant à la méticilline du fait de l'existence d'une résistance croisée à toutes les  $\beta$ -lactamines

## Antibiotiques et Antibiorésistance

---

Bientôt, d'autres molécules prennent d'assaut le domaine médical : le chloramphénicol, les tétracyclines, l'érythromycine et la streptomycine.

Dans les années soixante les pharmacologues tentent une nouvelle approche avec des antimicrobiens résistants aux pénicillinases produites par les Staphylocoques. Les céphalosporines de première génération présentant une affinité pour la PLP2a et par conséquent active sur le SARM ainsi que la méticilline ne tardent pas à apparaître et en 1961, moins d'un an suivant son introduction, des cas de SARM sont dénombrés dans les hôpitaux. **(Lowy, 2003).**

Dans les mêmes années (soixante), la gentamicine est introduite et on constate l'émergence de souches de *S. aureus* multi-résistance. Plus le temps passe, plus de nouvelles molécules apparaissent et plus la résistance aux antibiotiques chez les souches de *S. aureus* d'origine humaine augmente. **(Yala et al, 2001).**

Dans les années 80, les quinolones sont utilisées contre les infections causées par les bactéries à Gram négative. Vu leur efficacité contre les Gram positif, les cliniciens les utilisent à grande échelle, ce qui contribue à une pression sélective et au développement de résistance chez les *S. aureus*. Si bien que dans les années 80-90, les seules options thérapeutiques disponibles pour traiter les cas SARM demeurent des molécules de dernière ligne comme la vancomycine. Or dès 1997, les premiers cas de *S. aureus* résistants à la Vancomycine (VRSA) sont publiés.

Il reste donc très peu d'armes pour lutter contre ce type d'infection et la combinaison quinupristin/dalfopristin en fait partie **(Livermore, 2000).**

### III.2.6.2. Situation en médecine vétérinaire :

L'usage des antibiotiques (comme tout médicament vétérinaire) a pour objectif de maintenir les animaux en bonne santé et de contribuer à leur bien-être. Outils indispensables, ces médicaments permettent de contrôler le niveau sanitaire et d'assurer la qualité et la productivité dans les élevages **(Dehaumont et al, 2005)**

Tout comme en médecine humaine, l'utilisation d'antibiotique en médecine vétérinaire peut contribuer au développement de la résistance chez les bactéries. Ce phénomène est d'autant plus inquiétant lorsqu'il touche des bactéries d'origine animale transmissibles à

## Antibiotiques et Antibiorésistance

---

l'humain. L'utilisation d'antibiotiques à doses sub-optimale comme promoteur de croissance et l'usage massif en prophylaxie ont contribué à la mauvaise perception que l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire participait à l'émergence de l'antibiorésistance. Puisque de nombreux antibiotiques sont utilisés en médecine humaine et en médecine vétérinaire, cela ne fait que renforcer l'hypothèse de l'implication de la médecine vétérinaire dans ce phénomène d'antibiorésistance. **(Helmuth et al, 2004).**

Une analyse du risque publiée en 2004 mentionne que le risque potentiel de transmission d'antibiorésistance des animaux vers les humains est surtout lié aux bactéries ayant un potentiel zoonotique élevé telles les *Campylobacter* spp et les *Salmonella* spp. **(Teuber, 2001).**

D'un autre côté, on voit maintenant des cas de SARM (*S. aureus* méticilline résistance) et de *S. intermedius* multi-résistants chez des éleveurs d'animaux de la ferme et des propriétaires d'animaux domestique pour lesquels le sens de la transmission de la bactérie n'est pas complètement élucidé. **(Guardabassi et al, 2004 ; Hujdens et al, 2006).**

### III.2.7. Facteur de risque :

En raison de l'aspect ubiquitaire de *Staphylococcus aureus*, il est difficile de prévoir l'élimination de ce germe dans les élevages. Plusieurs facteurs interviennent dans la propagation de ce germe ; Manque d'hygiène au moment de l'infusion de l'antibiotique favorise la pénétration des germes **(Faroult et al, 2001).**

Les facteurs environnementaux tels que les problèmes de conduite d'élevage, le manque d'hygiène lors de la traite chez animaux de rente (les unités de traite contaminées, l'utilisation des mêmes serviettes et chiffons sur plusieurs vaches, les mains des préposés à la traite, les récipients utilisés pour tirer le premier lait, tout objet utilisé durant la traite), favorise l'apparition des mammites.

La densité de population élevée, l'urbanisation, les politiques de commande insatisfaisantes d'infection, l'utilisation antibiotique pour explosion, et le manque de la livraison de soins de santé appropriée sont certains des facteurs de risque sociaux établis pour la colonisation et la transmission des contraintes de *S. aureus* Dans les hôpitaux et les communautés **(Charlebois et al, 2002 ; Chen et al, 2011 ; Clements et al, 2008 ; Henderson, 2006 ; Rehm and Tice, 2010).**

## PARTIE PRATIQUE

---

### **Objectif de l'étude :**

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

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

### **I.Lieu :**

L'étude s'est déroulée au niveau de la région de Fréha (Wilaya Tizi-Ouzou), durant la période de Septembre à Mars 2016.

### **I.1. Prélèvement :**

#### **I.1.1. Matériel :**

Nous avons utilisé des flacons stériles en verre avec une ouverture assez large et étanche. Nous avons aussi identifié les flacons au crayon feutre, Alcool à 70° et coton, Emballage isotherme réfrigéré.

#### **I.1.2. Echantillonnage :**

L'anamnèse a été effectuée afin de nous permettre de s'assurer que le lait ne contient pas d'antibiotiques.

Les prélèvements ont été effectués suivant le protocole cité ci-dessous :

##### **I.1.2.1. Laits individuels :**

Ces laits étaient des laits de quartiers. Nous avons en aucun cas procéder au mélange du lait provenant de plusieurs quartiers d'un même animal ; car cette pratique n'a aucun sens puisque les quartiers sont indépendants vis-à-vis de l'infection. D'autre part, par l'effet de dilution qu'elle entraîne, elle peut rendre plus aléatoire l'isolement de l'espèce bactérienne responsable de l'infection.

Les prélèvements individuels ont été effectués dans les cas suivants :

- a) Mammites cliniques sporadiques avec échec de la thérapeutique,
- b) Mammites à répétition.

## PARTIE PRATIQUE

---

### I.1.3. Technique :

Dans le cas d'un prélèvement sur lait de quartier, nous avons suivi les recommandations classiques (*Annexe I*) (**Ferney et al, 1966**).

Un volume d'un (1) ml a été prélevé pour Chaque examen bactériologique.

### I.1.4. Conservation et acheminement :

Le prélèvement a été utilisé entre 24 à 48heures et maintenu à 4°C.

Nous avons appliqué une asepsie rigoureuse lors de la prise de l'échantillon, nous avons aussi respecté le régime du froid lors de la conservation et de l'acheminement, ce qui nous a permis la mise en évidence des pathogènes responsables. **«La qualité du prélèvement, de sa conservation, de son acheminement conditionne la réponse du laboratoire ».**

## II. Exploration du prélèvement :

### II.1. Matériel :

#### II.1.1. Matériel spécifique :

- Laits individuels.
- Milieu :
  - Gélose au sang de mouton et à l'esculine.
  - Milieu de Chapman.
- Les souches bactériennes :

Dix (10) souches de *S. aureus* isolées à Fréha (Wilaya Tizi-Ouzou) dans un laboratoire privé à partir du lait mammiteux des vaches.
- Matériel de laboratoire :

Etalon Mac Farland (0,5), Gélose Mueller Hinton, Gélose Hecktoen, Gélose au sang frais de mouton, Milieu mannitol mobilité, Milieu K.I.A, Milieu urée-indole, Bouillon de B.H.I.B, Bouillon au sélénite de sodium, Bouillon nutritif, Eau physiologique stérile, eau distillée stérile, Tubes à vis stériles, Tubes à hémolyse stériles, Flacons de 225 ml stériles, Pipettes pasteur stériles, pipettes graduées stériles, Erlen meyer stérile, Lames, Boîtes de pétri stériles, Anse pasteur à boucle, Pied à coulisse, Deux becs Benzène, Poire.

## PARTIE PRATIQUE

---

- Souche de référence : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Antibiotiques testés :  
Pénicilline (10UI), Ampicilline (10µg), Gentamicine (10µg), Néomycine (30µg), Kanamycine (30 UI), Fluméquine (30µg), Sulfaméthoxazole/Triméthoprimine (1,25/23,75µg), Erythromycine (15µg), Vancomycine (30UI), Nitrofuranes (300µg), Tétracycline (30µg), Acide oxolinique (10µg), Chloramphénicol (30µg), Spiromycine (100µg), Rifampicine (05µg), Streptomycine (10UI).

### II.2. Méthodes :

#### II.2.1. Isolement :

Les germes ont été isolés à partir des prélèvements de laits individuels des vaches atteintes de mammites, conservés dans des flacons identifiés et stériles et acheminés au laboratoire. Nous avons procédé comme suite :

- Centrifugation du lait à 1000 tours/ mn. Pendant 10 mn, pour séparer la crème du lactosérum.
- Le surnageant (crème) a étéensemencé directement sur gélose au sang frais de mouton à 12%, l'incubation a été alors de 24 heures à 37°C ensuite nous avons versé le contenu dans un tube à essai contenant le milieu de Chapman liquide pour un enrichissement qui a duré 30 mn à 1 heure à 37°C, puis nous avonsensemencé sur gélose Chapman dont l'incubation a été de 48h à 72h à 37°C.

#### II.2.2. Identification :

Toutes les manipulations ont été effectuées dans des conditions d'asepsie rigoureuses.

La mise en évidence de *S. aureus* repose sur la mise en évidence d'une enzyme : «la coagulase libre ».

La coagulase libre est relâchée dans le milieu, elle se détecte par sa capacité à coaguler du plasma contenant un anticoagulant comme le citrate, l'oxalate ou l'héparine.

Le test consiste à ajouter dans un tube à essai 0,5 ml d'une culture liquide de 18 à 24 heures de la souche à tester à plasma de lapin.

## PARTIE PRATIQUE

---

Le tube est maintenu à 37°C et examiné chaque heure jusqu'à 24 heures pour détecter la présence d'un caillot. La coagulase libre déclenche la conversion du fibrinogène du plasma de lapin (initialement lyophilisé puis reconstitué) en fibrine qui forme le caillot. **(Service de microbiologie et épizootiologie. 1989)**

### II.2.3. Antibiogramme :

Une fois que les bactéries sont identifiées, le travail sera complété par la réalisation d'un antibiogramme selon les recommandations de l'OMS « *Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire et humaine à l'échelle nationale* établie par les ministères de l'agriculture et de développement rural et de la santé, **voir 6<sup>ème</sup> édition 2011** »

#### ✓ **Technique :**

**-Milieu :** On a coulé la Gélose Mueller-Hinton dans des boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm. Les Géloses ont été prèes séchées avant l'emploi.

#### **-Inoculum :**

A l'aide d'une anse, on a prélevé 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques du germe à tester à partir d'une culture pure de 24 heures sur milieu d'isolement.

On a déchargé l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

On a homogénéisé bien la suspension bactérienne afin d'obtenir une opacité équivalente à 0,5 Mac Farland ou à une dose obligatoire de 0,10 à 625 nm pour avoir la même concentration. L'inoculum a été ajusté avec des colonies bactériennes.

L'inoculum bactérien a étéensemencé dans les 10 à 15 minutes qui ont suivi notre préparation afin de garder la même concentration des germes avec celle de l'étalon.

#### ✓ **Ensemencement :**

\_ On a trempé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.

\_ On l'a essoré en le passant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

## PARTIE PRATIQUE

---

\_On a frotté l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

\_On a répété l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois.

\_« On aensemencé plusieurs boîtes de pétri et à chaque fois nous avons rechargé l'écouvillon.

✓ **Application des disques d'antibiogramme :**

Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24mm, centre à centre.

Dans notre travail pratique on s'est limité à l'utilisation des antibiotiques disponibles au laboratoire.

✓ **Incubation** a été de 24 heures à 37°C.

✓ **Lecture :**

-On a mesuré avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse, puis nous avons comparé ces résultats aux valeurs critiques.

-La liste des antibiotiques que nous avons testés, figure dans le tableau (08) :

## PARTIE PRATIQUE

Antibiotique Testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
<b>Bétalactamines</b>				
Pénicilline	10 UI	≤28	-	≥29
Oxacilline	1µg	≤10	11-12	≥13
<b>Aminosides</b>				
Gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥17
Amikacine	30µg	≤14	15-16	≥17
<b>Macrolides</b>				
Erythromycine	15µg	≤15	14-22	≥23
<b>Glycopeptides</b>				
Vancomycine	30µg	-	-	≥15
<b>Autre</b>				
Cotrimoxazole	1,25/23,75µg	≤10	11-15	≥16
Rifampicine	5µg	≤16	17-19	≥20
Ofloxacine	5µg	≤12	13-15	≥16
Acide Oxolinique	10µg	≤17	18-21	≥20

**Tableau 08** : Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus*.

### II.2.4. Contrôle de qualité interne :

Nous avons procédé au contrôle de qualité afin de s'assurer de la précision et la fiabilité de la technique des tests de sensibilité, de la performance des réactifs utilisés dans les tests et la performance de notre manipulation et la lecture des résultats.

#### II.2.4.1. Procédure de contrôle interne :

-Le contrôle de la qualité du milieu de Mueller-Hinton, d'antibiotiques et de la souche de référence (*Staphylococcus aureus* ATCC 2592) ont été réalisés au laboratoire.

-Les mesures des diamètres des zones d'inhibition ont été soigneusement prises et comparées aux valeurs critiques.

## PARTIE PRATIQUE

-Après la réalisation des dix (10) tests concernés, on a procédé à l'interprétation des résultats comme suite :

- On n'a pas toléré plus de 02 valeurs en dehors des valeurs critiques définies pour l'antibiotique et la souche considérée (Pas plus de 02 erreurs). (**Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle national, 2011**).

### II.2.4.2. La lecture et l'interprétation des diamètres des zones d'inhibition :

. On a constaté que les interprétations sensibles-intermédiaires-résistants (S.I.R) correspondent bien aux diamètres mesurés.

.On a évité les deux causes principales d'erreur qui sont : mauvais ensemencement (stries non serrées), et mauvaise mesure des diamètres.

.Les mesures des diamètres d'inhibition ont été soigneusement prises et comparées aux valeurs critiques figurant dans tableau (09)

Antibiotique testés	Charge des disques	S. aureus ATCC 25923
Amikacine	30µg	20-26
Ampicilline	10µg	27-35
Pénicilline	10 UI	26-37
Chloramphénicol	30 µg	19-26
Erythromycine	15 µg	22-30
Gentamycine	10 UI	19-27
Kanamycine	30UI	19-26
Streptomycine	10UI	14-22
Oxacilline	1 µg	18-24
Ofloxacin	5 µg	24-28
Rifampicine	5 µg	26-34
Vancomycine	30UI	17-21

**Tableau 09** : Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour S. aureus ATCC 25923 utilisées pour le contrôle de qualité.

## PARTIE PRATIQUE

### II.2.4.3. Le milieu de culture :

.Le PH a été ajusté entre 7,2 à 7,4.

.L'Humidité : aucune goutte d'humidité n'a été présente sur la gélose à l'inoculation.

.Préparation des boites : on a coulé le milieu MH sur des boites posées sur un plan de travail strictement horizontal afin de permettre une répartition homogène du MH.

**II.2.4.4. Contrôle de l'inoculum :** l'inoculum et l'étalon 0,5 Mac Farland doit avoir la même turbidité lorsqu'ils sont examinés sur un fond rayé ou imprimé (papier journal par exemple).

**II.2.4.5. Disques d'antibiotiques :** avant l'utilisation des cartouches d'antibiotiques, nous avons vérifié la date de péremption.

Les cartouches ont été retirées du réfrigérateur deux heures avant leur utilisation.

### II.3. Résultats et discussions :

#### II.3.1. Résultats :

##### II.3.1.1. Résultats du test :

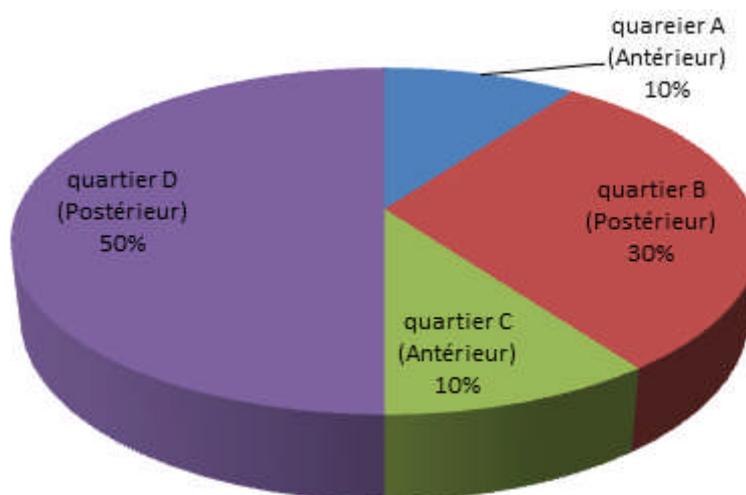
L'antibiogramme a été réalisé sur les dix (10) souches isolées à partir du lait mammiteux.

Nous avons constaté que la plupart des quartiers postérieurs gauches soit respectivement 30% et 50% ont été touché par des mammites cliniques résistantes aux traitements, par contre les quartiers antérieures droits soit respectivement 10% et 10% ont été sensibles au traitement (voir tableau 10 et (ANNEXE II)).

Quartier (mammite)	Droit (A+B)		Gauche (C+D)	
N° atteint	4/10		6/10	
Quartier atteint	A (Antérieur)	B (Postérieur)	C (Antérieur)	D (Postérieur)
N° atteinte	1	3	1	5
Pourcentage%	10%	30%	10%	50%

**Tableau 10:** Répartition de la mammite clinique sur les différents quartiers de la mamelle chez les vaches.

## PARTIE PRATIQUE



**Figure 13** : Répartition des mammites sur différents quartiers de la mamelle.

### II.3.1.2. Résultats de l'antibiogramme :

Les résultats des antibiotiques testés sont portés dans les tableaux (10, 11, 12, 13 et 14).

N° de la souche		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
ATB	Normes (mm)										
<b>P</b>	28-29	00	29	00	19	40	09	00	32	20	00
<b>G</b>	12-17	17	32	17	28	26	08	00	22	24	28
<b>E</b>	13-23	00	00	00	00	32	00	00	23	23	00
<b>VA</b>	= ou >15	00	19	15	17	18	16	00	00	00	00
<b>RA</b>	16-20	14	44	20	32	40	32	20	36	36	16
<b>AO</b>	17-20	00	00	00	20	18	17	00	00	18	12

(**P**= Pénicilline, **G**= Gentamycine, **E**= Erythromycine, **VA**= Vancomycine, **RA**= Rifampicine, **AO**= Acide Oxolinique).

**Tableau 11** : Résultats des diamètres des zones d'inhibition des *S. aureus*.

## PARTIE PRATIQUE

N° de la souche		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
ATB	Normes (mm)										
<b>P</b>	28-29	R	I	R	R	S	R	R	S	R	R
<b>G</b>	12-17	I	S	I	S	S	R	R	S	S	S
<b>E</b>	13-23	R	R	R	R	S	R	R	I	I	R
<b>VA</b>	= ou >15	R	S	I	S	S	S	R	R	R	R
<b>RA</b>	16-20	R	S	I	S	S	S	I	S	S	I
<b>AO</b>	17-20	R	R	R	I	I	I	R	R	I	R

**Tableau 12:** Résultats et interprétation du tableau N° 11 suivant la sensibilité de chaque souche aux antibiotiques testés.

R= souche résistante. I= souche intermédiaire. S= souche sensible.

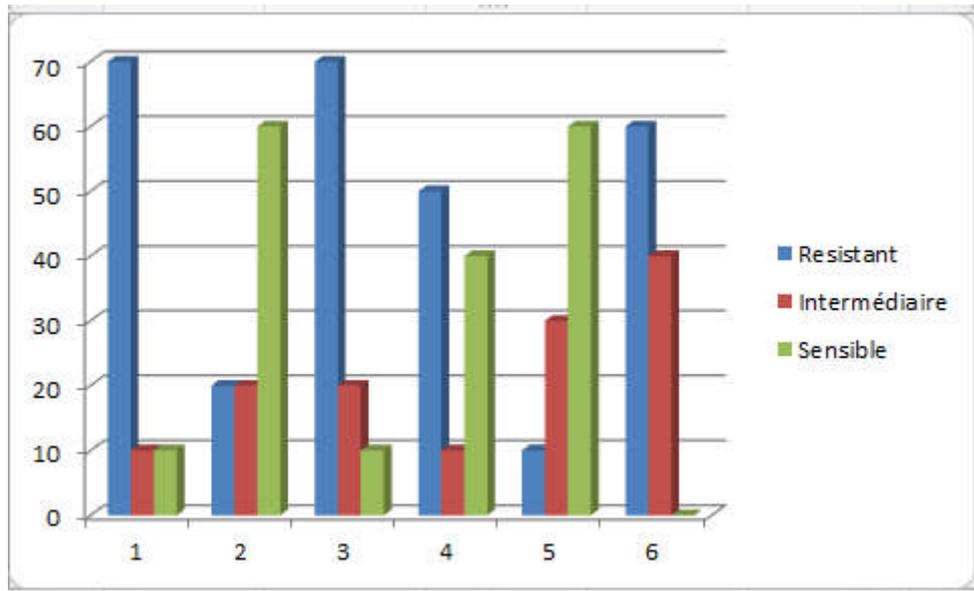
	<b>P</b>	<b>G</b>	<b>E</b>	<b>VA</b>	<b>RA</b>	<b>AO</b>
Résistance (R)	7	2	7	5	1	6
Intermédiaire (I)	1	2	2	1	3	4
Sensible (S)	1	6	1	4	6	0

**Tableau 13 :** Nombre des souches sensibles, intermédiaires et Résistantes de Staphylococcus aureus aux antibiotiques testés.

	<b>P (1)</b>	<b>G (2)</b>	<b>E (3)</b>	<b>VA (4)</b>	<b>RA (5)</b>	<b>AO (6)</b>
Résistance (R)	70%	20%	70%	50%	10%	60%
Intermédiaire (I)	10%	20%	20%	10%	30%	40%
Sensible (S)	10%	60%	10%	40%	60%	00

**Tableau 14 :** Pourcentage des souches sensibles, intermédiaires et Résistantes de Staphylococcus aureus aux antibiotiques testés.

## PARTIE PRATIQUE



**Figure 14** : Histogramme des souches sensibles, intermédiaires et Résistantes de Staphylococcus aureus aux antibiotiques testés.

### Interprétation des résultats :

La majorité des souches isolées ont manifesté des résistances considérables vis-à-vis de la Pénicilline, l'Erythromycine (7/10 souches), l'acide oxolinique (6/10) et la Vancomycine (5/10).

Par contre une minorité des souches ont manifesté une légère sensibilité à la Gentamycine (2/10 souches) et la Rifampicine (1/10 souches).

### II.3.2. Discussion :

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

Pour la pénicilline testé on a obtenu un nombre considérable de souches résistantes, sept (07) parmi les dix (10) souches isolées soit 70% ; en effet cette résistance a été signalée par l'auteur **Perrin-Coullioud** en 1992, celui-ci ayant travaillé sur des souches de S. aureus isolées à partir de mammites bovines qui ont montré une résistance aux Beta-lactamines.

D'autres souches ont été moins résistantes aux antibiotiques restantes soit l'Acide Oxolinique, la Gentamycine, la Rifampicine et la Vancomycine.

## PARTIE PRATIQUE

---

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

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

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

### Conclusion

La résistance bactérienne aux antimicrobiens se traduit cliniquement par des échecs thérapeutiques rendant le choix de la molécule ardu. En effet, le test de sensibilité « l'antibiogramme » permet d'évaluer *in vivo* l'efficacité de ces molécules, classant la bactérie comme sensible, résistante ou de sensibilité intermédiaire pour chaque antibiotique testé.

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

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

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

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

Au niveau de l'institut Pasteur d'Alger ont commencé depuis longtemps à travailler sur la Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire et humaine à l'échelle nationale. (voir 6<sup>ème</sup> édition 2011).

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

## Références Bibliographiques

- **Avril J.L, Dabernat. H, Denis F. and Monteil H. 1992** :Bacériologie clinique, ellipse, Ed, 2<sup>ème</sup> édition, France, p : 14-19.

-**Acha P. N, Szyfres B. 1989** : Les Zoonose et maladies communes à l'homme et aux animaux- 2<sup>°</sup> Edition, Paris OIE, p :1063

-**Alami M, Barret R, Brion JD, Enguehard-Gueiffia C, Foliot P, Gaudy C, Gerondeau N, Gueffier A. 2005** : Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Collection pharma Elsevier. Page 269.

-**Ana Rita Costa, Deivid W. F. Batistão, R-Clements A, Halton K, Graves N, Pettitt A, Morton A, Looke D, Whitby M. 2008** :  
Overcrowding and understaffing in modern health-care systems: key determinants in meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission. *The Lancet Infectious Diseases* 8:427–434  
DOI 10.1016/S1473-3099(08)70151-8.

-**Anderson D. I. and D. Hughes. 2010** :Antibioticresistance and itscost : isit possible to reverse resistance ? *Nat RevMicrobiol.* 8(4). P : 260-71.

-**Archambaud M. Mars 2009**:Les antibiotiques et les pricipalesfamille,Support génétique : localisation des gènes de résistance.Laboratoire Bactériologie-Hygiène. CHU RangueilToulouse.MicrosoftPower point.

-**Berche P. 2003** :les staphylocoques. In bactériologie systématique, Faculté de Médecine Necker-Enfants Malades p : 15-17.

-**Berthelot X, Bergonier D. 2001** : Diagnostic bactériologique des mammites. Bulletin des GTV. P10.

-**Bertrand X, Talon D. et al. 2001** : Observation de la morbidité liée à *Staphylococcus aureus* : resistantà la methicillin (SARM). ONERBA.

-**Bisognano Carmelo. 2000** :Impact de la résistance antibiotique et des fluoroquinolones sur l'adhérence à la fibronectine de *Staphylococcus aureus*: étude fonctionnelle et mécanismes moléculaires.Thèse de doctorat : Sciences, Université de Genève, n°3242. p102.

-**Bohn C. mars 2010** : « Experimentaldiscovery of smallRNAs in *Staphylococcus aureus* reveals a riboregulator of central metabolism », *NucleicAcidsResearch*.

-**Boyce JM. 1990** :Increasingprevalence of methicillin-resistant*Staphylococcus aureus* in the United States. *Infect Control HospEpidemiolo*, 11 : 636-42.

-**Bradley A, J et al. 2004** : The importance of the nonlactingperiode in the epidemiology of intramammary infection and strategied for prevention, *vet. Clin. Food anim.*

-**Briand non Michel. 1991** :« Mécanismes moléculaires de la Rifampicine » et « Mécanismes moléculaires de la bactéricide Tétracycline ».

**-Brien FG, Lim TT, Chong FN, Coombs GW, Enridht MC, Robinson DA, Monk A, Said-Salim B, Kreiswirth BN, Grubb WB. 2004 :** Diversityamongcommunityisolates of methicillin-resistant*Staphylococcus aureus* Australia. *J Clin Microbiol*, 42 : 3185-90.

**-Caillon J. 2009 :**Les Antibiotiques. Université de Nantes. P : 34-55.

**-Castaigne J C.** [www.fmv.ulg.ac.be.2002](http://www.fmv.ulg.ac.be.2002).

**-Chambers HF.2001 :** The changingepidemiology of *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis*, 7 : 178-82.

**- Charlebois ED, Bangsberg DR, Moss NJ, Moore MR, Moss AR, Chambers HF, Perdreau Remington F.2002 :** Population-based community prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the urban poor of San Francisco. *Clinical Infectious Diseases* **34**:425–433 DOI 10.1086/338069.

**-Chavakis T, WiechmannK, Preissner KT, Herrmann M. 2005 :***Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: the role of bacterial “secretableexpandedrepertoireadhesivemolecules” (SERAM) in disturbing host defensesystems. *ThrombHaemost.* 94 (2), p278-285.

**-Chen C-J, Hsu K-H, Lin T-Y, Hwang K-P, Chen P-Y, Huang Y-C.2011 :**Factorsassociatedwithnasal colonization of methicillin-resistant*Staphylococcus aureus* amonghealthychildren in Taiwan. *Journal of ClinicalMicrobiology***49**:131–137 DOI 10.1128/JCM.01774-10.

**-Chopera. H, Roberts. M. 2001 :**Tetracyclineantibiotics : mode of action, applications, molecularbiology, and epidemiology of bacterialresistance. *Microbiol Mol BiolRev.* P : 232-260.

**-Clements A, Halton K, Graves N, Pettitt A, Morton A, Looke D, Whitby M. 2008 :** Overcrowding and understaffing in modern health-care systems: key determinants in methicillin-resistant*Staphylococcus aureus* transmission. *The Lancet InfectiousDiseases***8**:427–434. DOI 10.1016/S1473-3099(08)70151-8.

**-Cohen J. O. 1972 :**The *Staphylococci*. John Wiley& Sons, Inc., Atlanta, Georgia.

**-Courvalin P. 1997 :**Stratégies évolutives des résistances aux antibiotiques, 19-23. Médecine thérapeutique, vol.3 (hors-série).

**-Courvalin P. 2008** :La résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaison de mécanismes biochimiques et génétiques, Académie vétérinaire de France, (160), p : 7-12.

**-Couture B. 1990** :Bactériologie médicale « Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical ». Vigot, Paris. 15-32.

**-David MZ, Daum RS. 2010** : Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clinical Microbiology Reviews* **23**:616–687 DOI 10.1128/CMR.00081-09.

**-Dehaumont P, Moulin G. 2005** : Evolution du marché des médicaments vétérinaires et de leur encadrement réglementaire : conséquences sur leur disponibilité. - Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 2005, **158**, n°2, 125-136.

**-Delery L, 1999** : Antibiorésistance bactérienne dans l'eau : problématique de la transmission de l'animal à l'homme. Les bases moléculaire de l'antibiorésistance bactérienne; mémoire de l'école national de la santé publique- 1999. P :2-11.

**-Dorosz Ph, Vital Durand D, Le Jeune C. 2011** :Guide pratique des médicaments. 30eme éd. Maloine, Paris, p1892.

**-Drugeon H. 2006** :  $\beta$ -lactamines et staphylocoques. In : Courvalin, P., Leclercq, R., Bingen, E. *Antibiogramme*. ESKA, Paris, p117-123.

**-Durel L, Faroult B, Lepoutre D, Brouillet P, Le page Ph. 2004**: Mammmites des bovins (cliniques et subcliniques). Démarches diagnostiques et thérapeutiques. *La Dépêche Technique*. Supplément technique 87 à la Dépêche Vétérinaire du 20 Décembre 2003 au 2 Janvier 2004. 39 p.

**-Duval J, 1995** : Soigner la mammite sans antibiotiques, agr., M. sc. Juillet 1995.

**-Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schkeufer KH., Stackebrandt E. 2006** : The Prokaryotes : Bacteria : Firmicutes, Cyanobacteria. 3eme éd. ; Springer, New-York. Vol 4, Chap.1.2.1. The genera *Staphylococcus* and *Macrococcus*, p4-75.

**-Efsa. A. 2009** :Assesment of the public healthsignificance of méthicilline resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in aimals and foods. The European Food SafetyAuthority, (993) : P. 1-7.

**-Eicher R, Sutter-Lutz B, Berger L. 2003** : Contrôler les mammites à *Staphylococcus aureus*. *Le Point Vétérinaire* 2003, 33(228) : 50-54.

-**Erskine R. 2004** : Philosophical approach to antibiotic therapy: know the cow, bug and drug proceeding of the animal meeting of the national mastitis council, P03.

-**Euzeby JP, 2005** : Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. <http://www.bacterio.cict.fr/bac-deco/index.html>.

-**Eveillard M. 2007** : Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat, Université d'Angers, n°749. p158.

-**Faroult B et Seryes F. 2001** : Référence vétérinaire GTV partenaire : bonnes pratiques vétérinaires par la définition d'un plan de traitement des mammites dans le troupeau SNGTV Paris, novembre 2001. P10-12.

-**Fasquelle R. 1974** : Eléments de bactériologie médicale 9<sup>ème</sup> édition. Flammarion, Paris. 27-36.

-**Fauchere J.L. and Avril J.L. 2002** : Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris, p : 213-217.

-**Ferron A. 1984** : Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12<sup>ème</sup> édition. Paris. P : 87-94.

-**Foster T. 1996** : Staphylococcus, In: Baron (Ed.), Medical Microbiology, University of Texas Medical Branch at Galveston, Texas.

-**Freney J., Renaud F., Leclercq R. et Riegel P. 2007** : Précis de bactériologie clinique 2<sup>ème</sup> édition ESKA. Paris. P : 795-840.

-**Frieden T. 2013** : *Antibiotic resistance threats in the united states*, How antibiotic resistance happens. Division of Healthcare Quality Promotion, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, 1600 Clifton Road, Mailstop A-07, Atlanta, Georgia, 30333. E-mail:hip@cdc.gov .2013. CS239559. P :14

-**Garcia-Alvarez L, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DF, Currah MD. 2011** : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel mecA homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 11, p595-603.

-**Gedilaghine V. 2005** : La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière. Conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action G.T.V. Partenaire dans le département de la Manche. *Thèse pour le doctorat vétérinaire*, Maisons Alfort, 2005. 106 p.

-**Giguère S. 2006** : Tetracycline and glycolines. In Antimicrobial therapy in veterinary medicine. 4th Ed, Arnes, Blackwell publishing, p : 231-240.

-**Gruerin P. 2007** : Les mammites de la vache laitière. Laboratoire micrologie et immunologie, faculté Méd. Vét. P11-14/17-35/50-53.

-**Guardabassi L, Loeber ME, Jacobson A. 2004** :Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners.

-**Guiraud JP et Rosec JP. 2004** : pratique des normes en microbiologie alimentaire, AFNOR, p 161-163-165.

-**Hanzen CH. 2000** : Propédeutiques et pathologies de la reproduction mâle et femelle, biotechnologie de la reproduction et pathologie de la glande mammaire, 4<sup>ème</sup> édition. Université de Liège. P01.

-**Hanzen CH. 2010** : Propédeutique de la glande mammaire sémiologie de diagnostic individuel et de troupeau. Approche individuelle.

-**Helali A, 2002** : Pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en Médecine, Edition ENAG, Alger. Page 135-171.

-**Helmuth R, Hensel A. 2004** :Towards the rational use of antibiotics : results of the first International Symposium on the Risk Analysis of Antibiotic Resistance. *J Vet Med B Infects Vet Public Health*, 51(8-9). P : 357-360.

-**Henderson DK. 2006** :Managing methicillin-resistant staphylococci: a paradigm for preventing nosocomial transmission of resistant organisms. *American Journal of Infection Control* 34:S46–S54. Discussion S64–S73 DOI 10.1016/j.ajic.2006.05.228.

-**Higgins PG, Fluit AC, Chmitz FJ. 2003**: Fluoroquinolones : structure and target sites. *Drug Targets* 4(2), 181-190.

-**Howard BJ and Kloos WE. 1987** :Staphylococci., in: Howard BJ, Klass J, J RS, Weissfeld AS, and Tilton RC (Eds.), *Clinical and Pathogenic Microbiology*, Mosby, Washington, pp. 231-234.

- **Hollmann K. 1974**: Cytology and fine structure of mammary gland. In LARSON B.L. SMITH.V.R, lactation IA. *Comprehensive treatise. Academic Press. New York.* 3.95.

- **Hujdens XW, Spalburg E, Pluister GN, Voss A, Neeling AJ. 2006** : Community-acquired MRSA and pig-farming. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.*

-[http://faculty.ksu.edu.sa/shoeib/Pictures%20Library/\\_w/GramPositiveEnvelope\\_gif.jpg](http://faculty.ksu.edu.sa/shoeib/Pictures%20Library/_w/GramPositiveEnvelope_gif.jpg)

Consulté le 10 janvier 2013.

-**Jarlier V. 1997** :Mécanisme de résistance aux antibiotiques, 46-58. *Médecine thérapeutique*, vol.3 (hors-série).

-**Jean-Baptiste, Claude, rebertgandon. 2010** : Comparaison entre méthode épidémiologique et méthode bactériologique de diagnostic lors d'une épizootie de mammite en élevage bovin. *Ecole national vét. Alfort.* P :12.

**-Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. 2000** :A new class of genetic element, Staphylococcus cassette chromosome *mec* encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 44, p1549-1555.

**-Kawabata S., Morita T., Iwanaga S., Igarashi H. 1985** :Staphylocoagulation-binding region in human prothrombin. *J Biochem.* 97(1), p325-331.

**-Kebbal S. 2002** : Méthode de diagnostic des mammites et facteurs de risque. Thèse magistère. Université de Blida 2002. Alger.

**-Kloos W. E. and Bannerman K. H. 1975** : « Simplified scheme for routine identification of human Staphylococcus species ». *Journal of clinical Microbiology.* Vol.1 : 82-88.

**-Kloos WE and Bannerman TL. 1994** : Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology. Reviews* 7[1], 117-140.

**-Kloos WE and Lambe DWJ. 1991** : Staphylococcus In: Barlows A, Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg HD, and Shadomy HJ (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, ASM, Washington D.C, pp. 222-237.

**-Lambert Z N. 1999** : Résistance bactérienne, In : Bergogne-Bérézin E, Dellamonica P. *antibiothérapie en pratique clinique*, Paris Masson, p : 37-40-38-39.

**-Laurent F, Chardon H, Haenni M, Bes M, Reverdy ME, Madec JY, Lagier E, Vandenesch F, Tristan A. 2012** :MRSA harboring variant *genemecC*, France. *Emerg Infect Dis.* 18, p1465-1468.

**-Le Minor L. and Veron M. 1990** :Bactériologie médicale « Staphylococcus et Micrococcus » J. Fleurette 2<sup>ème</sup> édition. Flammarion Médecine-Science, Paris. 773-794.

**-Leclercq R. 2002** :Résistance des Staphylocoques aux antibiotiques. *Ann Fr Anesth Réanim.* 21 : p : 375-383.

**-Leclercq R. 2004** :Epidémiologie et facteurs de risque d'acquisition de Staphylocoque résistants. *Med Mal Infect* 34. p : 179-183

**-Lin Y-C and Peterson ML. 2010** : New insights into the prevention of staphylococcal infections and toxic shock syndrome. *Expert Review of Clinical Pharmacology* 3[6], 753-767.

**-Lisa Stark. 2013** :*Staphylococcus aureus*. Aspects of pathogenesis and molecular epidemiology. Linköping University Medical Dissertations No. 1371. Printed in Sweden by LiU-Tryck, Linköping. ISBN 978-91-7519-568-1. P :14-27.

**-Liu GY, Essex A, Buchanan JT, Datta V, Hoffman HM, Bastian JF, Fierer J, and Nizet V. 2005** :Staphylococcus aureus golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through antioxidant activity. *T. The Journal of Experimental Medicine* 202[2], 209-215.

**-Livermore D M. 2000** :Antibioticresistance in staphylococci. Int J Antimicrob Agents, 16 Suppl 1. P : 3-10.

**-Lowry F.D. 2003** :Antimicrobialresistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*.111, p1265-1273.

**-Lowy F D .1998** :Staphylococcus aureus infections. N Engl J Med 339. P : 520-32.

**-Luc Descôteaux et al octobre 2004** : La mammite clinique et stratégie d'intervention. Bactéries contagieuses, Staphylococcus aureus.Saint-hyacinthe (Québec) le 21 octobre 2004. Consulter [le catalogue des publications du CRAAQ](#). P 7.

**-Marco Silva. G. (consulté en novembre 2012).***Staphylococcus aureus* [en ligne], [http://7staphylococcusaureus.blogspot.fr/2007/11/diagnostico-laboratorio\\_14.html](http://7staphylococcusaureus.blogspot.fr/2007/11/diagnostico-laboratorio_14.html).

**-Martel JL. 1991** : Le diagnostic bactériologique des mammites. Dans : Mammite des vaches laitières, paris, (18-19 décembre 1991), Société Française de BUIATRIE, Toulouse. P10.

**-Mazmanian SK, Liu G, Ton-That H, Schneewind O. 1999** :*Staphylococcus aureus* sortase, an enzyme thatanchors surface proteins to the cellwall. *Science*. 285 (5428), p760-763.

**-McEwen S. 2002** :L'utilisation au Canada d'antimicrobiens chez les animaux destinés à l'alimentation : les conséquences pour la résistance et la santé humaine. Rapport du Comité consultatif sur l'utilisation d'antimicrobiens chez les animaux et les conséquences pour la résistance et la santé humaine. 229p. [[http://www.hcsc.gc.ca/dhp-mps/pubs/vet/amr-ram\\_final\\_reportrapport\\_06-27\\_cp-pc-fra.php](http://www.hcsc.gc.ca/dhp-mps/pubs/vet/amr-ram_final_reportrapport_06-27_cp-pc-fra.php)].

**-Meunier D. 1999** : Infection mammaire à S. aureus, caractérisation et évaluation d'antigène pour le diagnostic immunologique, thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de tous.

**-Michel-Briand Y. 2002** : Mécanismes moléculaires de l'action des antibiotiques. 1er éd. Masson, Paris, p370.

**-Moulin M, Coquerel A. 2002** : Pharmacologie médicale. 3ème éditions Masson. Paris, Page 845.

**-Mulligan ME, Murray-Leisure KA, Ribner BS. et al. 1993** :methicillin-resistant Staphylococcus aureus : a consensus review of microbiology, pathogenesis and epidemiology with implication for prevention and management. Ann J Med, 94 : 313-28

**-Nair A, Ghazy K, Dahache SV. 2000** :Incidence des mammites sur les différents élevages bovins de la wilaya de Tiaret. 4<sup>ème</sup> séminaires international de médecine vétérinaires contant 21-22 Novembre 2000.

**-Nauciel C, Vildé JL. 2008** :Bactériologie médicale. 2<sup>ème</sup> éditions. Edition Masson. Page 257.

**-Ndorma O-Oscar S**: Exposé « La résistance bactérienne aux antibiotiques ». VI-4, FSR Rabat AGDAL. Faculté de médecine à rabat Prof. Jean François LEMELAND.  
[www.who.int/inf3fs/fr/am194.html](http://www.who.int/inf3fs/fr/am194.html).

**-Neal M, 2007** : Pharmacologie médicale. 3<sup>ème</sup> éditions. De Boeck. Paris, page 80-85.

**-OMS : Organisation Mondiale de la Santé** [en ligne],  
[http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_210\\_fre.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_210_fre.pdf). Consulté en janvier 2012.

**-Page C, Curtis M, Sutter M, Hoffman B. 1999** : Traduction de la 1<sup>ère</sup> édition anglais par Cheymol G. Phamacologie intégrée De Boeck. Paris. Page : 419-460.

**-Pasmans L F, Haesebrouck F. 2008** :Antimicrobial resistance of old and recent Staphylococcus aureus isolates from poultry : first detection of livestock associated méthicilline resistant strain ST398. Antimicrob Agents Chemother. P : 3817-3819.

**-Pasteur L. 1877** :A propos de deux maladies soignées à l'hôpital Saint-Louis pour pustule maligne.

**-Perrin et coullioud M. 1992** : Staphylocoques et mammites bovines : importance des espèces différents de Staphylococcus aureus.

**-Plata K, Rosato AE, and Wegrzyn G. 2009** : Staphylococcus aureus as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. Acta Biochimica Polonica 56[4], 597-612.

**-Poole K. 2004** : Resistance to beta-lactam antibiotics. Cell Mol Life Sci, 61(17).

**-Poutrel B. 2004** : Le diagnostic des mammites pour et par le vétérinaire praticien, intérêt et limites. Journées Nationales des G.T.V., Tours 2004 : 805-810.

**-Poyart C. 2002** : Origine et évolution de la résistance aux antibiotiques. Bactériologie générale, édition : Faculté de médecine Necker-Enfants-Malade 2002-2003.

**-Pr Benyoussef S. consulté en décembre 2012.** Les sulfamides antibactériens [en ligne], <http://pharmatox.voila.net/cours/sulfamidesantibacteriens.pdf>.

**-Pr Rabaud Ch. consulté en décembre 2012.** Les glycopeptides [en ligne], [http://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=glycopeptides&source=web&cd=2&sqi=2&ved=0CDQQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.infectiologie.com%2Fsite%2Fmedias%2Fdiaporamas%2Ftraitement%2Fglyco\\_rabaud-04.ppt&ei=G\\_O9ULCaMMiW0QWph4HoAQ&usg=AFQjCNHpkKDGEfwDR\\_GVf5kg1Ox\\_Gs9UA](http://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=glycopeptides&source=web&cd=2&sqi=2&ved=0CDQQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.infectiologie.com%2Fsite%2Fmedias%2Fdiaporamas%2Ftraitement%2Fglyco_rabaud-04.ppt&ei=G_O9ULCaMMiW0QWph4HoAQ&usg=AFQjCNHpkKDGEfwDR_GVf5kg1Ox_Gs9UA).

**-Prescott L-M, Harley J-P, Klein D, alberg T, Trad, Dusart J. 2003** :Microbiologie 2eme édition. Bruxelles : De Boeck. 808-882.

**-Pulvinage P, Ducreuet T, Josse J, Monicat F. 1991** : Facteur de risque des mammites des vache litières. Résultatd'enquêt. Rec. Med. Vét, 167 : 105-112.

**-Ray C and Ryan KJ. 2003** :SherrisMedicalMicrobiology : An Introduction to InfectiousDiseases.

**-Rehm SJ andTice A. 2010** :*Staphylococcus aureus*: methicillin-susceptible *S. aureus* to methicillin-resistant*S. aureus* and vancomycin-resistant*S. aureus*. *ClinicalInfectiousDiseases*. **51(Suppl 2)**:S176–S182 DOI 10.1086/653518.

**-Remy D. 2007** : Les mammites, cours DCEV 3 de l4ENVA, juillet 2007.

**-Richard Eicher, Barbara Lutz, Luc Gerber, Marc Kirchhofe** :Mammite à Staphylococcus doré. *Illustrations*: Service sanitaire bovin.Dr. méd. vét. DES, FVH. *Editeur*:Eschikon 28, 8315 Lindau

**-Robert D. juin 2013** : Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM) : généralité,antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Thèse pour obtenir DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE.

**-Ruppitsch W, IndraA, Stoger A, Mayer B,Stadlbauer S, Wewalka G, Allerberger F. 2006** :Classifying spa types in coplexesimprovesinterpretation of typingresults for methicillin-resistant*Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*.44 (7), p2242-2448

**-Salat O, Lhermie G, Bastien J.2007** : Démarches pratique de traitement des infections mammaires à staphylocoques aureus. *Journées Nationales des G.T.V.*, Nantes 2007 : 783-794.

**-Salyers A, and Whitt D. 2002** :BacterialPathogenesis, a MolecularApproach, Second Edition ed. ASM Press, Washington,D.C.

**-Schmieder R and R. Edwards. 2012** : Insights intoantibioticresistancethrough metagenomicapproaches. *Future Microbiol* 7:73-89

**-ScienceDirect, 2012** : Surface proteinadhesions of *Staphylococcus aureus* [en ligne], <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X98014000> , consulté en novembre 2012.

**-Service de microbiologie et épizootiologie** : Rapport annuel du fonctionnement de l'institut Pasteur d'Algérie, 1979-1989.

**-SilvermanGJ., Goodyear CS.2003** :Death by a B CellSuperantigen. *JExp Med.* 197(9), p1125–1139.

**-Smith BP. 2008** : Mammary gland health and disorders. Large animal internalmedicine. Fourthedition 1112-1119.

**-Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle national** « médecine vétérinaire et humaine » ; Document édité avec la collaboration de l'OMS. Voir 6<sup>ème</sup> édition **2011**. [www.sante.dz/aarn](http://www.sante.dz/aarn).

**-Taylor DE, Jerome LJ, Jaswinder G, Chang N, Tet(O). 1995** : A proteinthatmediates ribosomal protection to tetracycline, binds, and hydrolyses GTP. *Can J Microbio.* 41 (11), p965-970.

**-Tenson GJ, Funke BR, Qase CL. 2003** : Introduction à la Microbiologie. Adaptation française par Louis Martin, 7<sup>ème</sup> édition. Canada : Bibliothèque nationale du Canada, p : 945.

**-Thakker M, Park JS, Carey V, Lee JC. 1998** :*Staphylococcus aureus* serotypes 5 capsularpolysaccharide isantiphagocytic and enhancesbacterial virulence in a murine bacteremiamodel.*Infect Immun.* 66 (11), p5183-5189.

**-Tomasz A, Nachman S, Leaf H. 1991** : Stable class of phenotypic expression in methicillin-resistanceclinicalisolates of staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 35, p124-129.

**-Toy E-C, Debord C, WangerA, Kettering J, Castro G, Briscoe D. 2008** :Staphylococci. Case files Microbiology : Second Edition. 21 p :156-159.

**-Tuber M. 2001** :Veterinary use and antibioticresistance. *CurrOpinMicrobiol*, 4(5). P :493-499.

- UFDCQC : Union Fédérale Des Consommateurs Que Choisir. 2007.** Les antibiotiques. 29-47.
- Van de Leemput E. 2007 :**Analyse bactériologique du lait. *Conférence organisée par le laboratoire Pfizer pour les vétérinaires en exercice*, Nantes, Mai 2007.
- Veyssier P. 1999 :**Aminoglycosides, Aminocyclitol. In : Bryskier A. Antibiotiques agents antibactérien et antifongique, Paris, Ellipses, p : 473-997.
- Walker R D, Dowling P M. 2006 :**Fluoroquinolones. In Antimicrobialtherapy in veterinarymedicine. 4th Ed, Ames, Blackwellpublishing, p 263-284.
- Weiss K, R Blais, A Fortin, S Lantin et M Gaudet. 2011 :** Impact of a multiprongededucationstrategy on antibioticprescribing in Quebec, Canada. *ClinicalInfectiousDiseases*, 53: 433-439.
- Wilkinson BJ. 1997 :**Biology.in: Crossley KB and Archer GL (Eds.), The Staphylococci in HumanDiseases. Churchill Livingston, London, pp. 1-38.
- Yala D, Merad A-S, Mohamedi D, OuarKorich M-N. 2001 :**Resistance bactérienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb*.91 p : 13-14.
- Yani P, 2003 :** Pathologie Infectieuse. Médecine Science, 3éme édition,Flammation. Paris, p : 237-246.

### ***Annexe I (Ferney et al, 1966)***

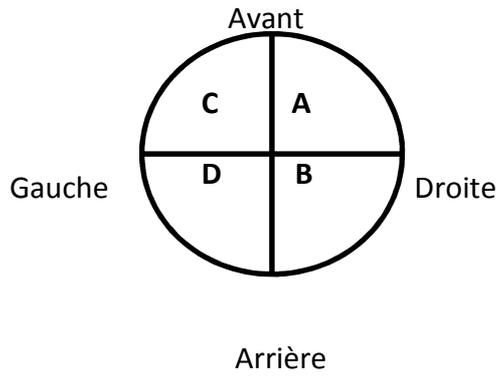
#### **Le prélèvement de l'échantillon de lait de quartier pour examen Bactériologique**

- 1) Nettoyer la mamelle et les trayons avec un linge propre à l'eau savonneuse tiède ou à l'eau javellisée (0,06% Cl. Actif, Cl. Actif +/- degré chlorométrique N fois 3,21), rinçage et séchage.  
Si la mamelle est propre, il suffit de bien l'essuyer.
- 2) Désinfecter l'extrémité du trayon avec un tampon de coton imbibé d'alcool à 70°.
- 3) Eliminer le premier jet de lait dans un récipient.
- 4) Saisir le flacon à prélèvement entre le pouce et les doigts de la main gauche et retourner de telle sorte que le bouchon soit dirigé vers le bas.
- 5) Prendre le bouchon avec la main droite par son bord supérieur et le desserrer, le porter entre l'index et le médus de la main gauche, le flacon restant tenu ouverture toujours en bas entre le pouce et l'index.
- 6) Saisir le trayon de la main droite, ramener le pis en position latérale, traire les jets de lait presque horizontalement dans le flacon basculé au moment où le lait gicle pour que l'ouverture du flacon soit le plus près possible de l'extrémité du trayon.
- 7) Boucher le flacon.

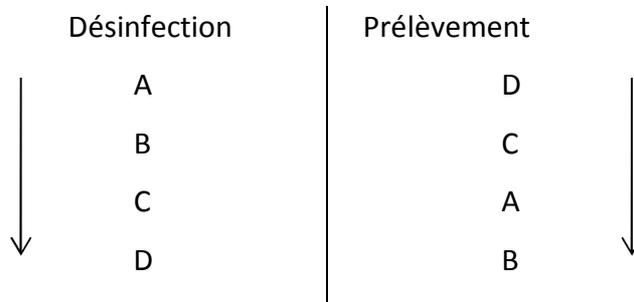
Lorsqu'un prélèvement est effectué pour chacun des quartiers, si l'on procède à la désinfection des quartiers avant d'effectuer les prélèvements, on doit munir de quatre tampons de coton imbibé d'alcool à 70° et procéder selon le schéma suivant :

# LES ANNEXE

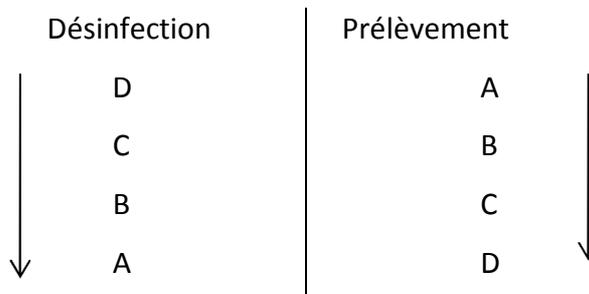
---



Placé à gauche :



Placé à droite :



8) **Identifier le flacon** en inscrivant le numéro ou le nom de l'animal ainsi que le quartier.

# LES ANNEXE

## ANNEXE II

### SUGGESTION DE FICHE DE RESULTATS

LABORATOIRE DE..... N° Référence :.....

ADRESSE.....

### DIAGNOSTIC DE MAMMITES

Dr Vétérinaire :..... Eleveur :.....

Adresse :..... Adresse :.....

.....

#### 1) Identification du prélèvement :

a) Nom et numéro de l'animal :.....

b) Lait de :

Bovin

Ovin-Caprin

Autre

C	A	G	D
D	B		

Quartier de la vache

Les pis

1) Date de réception de prélèvement :.....

2) Qualité de prélèvement :.....

3) Autres recherches :.....

.....

.....

.....

## LES ANNEXE

---

### 4) Recherches demandées :

N° de flacon	Race	Age (ans)	Quartier atteint				Couleur de lait	Réponse au traitement		Traite mécanique	
			Droit		Gauche			Oui	Non	Oui	Non
			A	B	C	D					
1	Mob	5				O	Jaune		O	O	
2	Mob	6				O	Jaune		O	O	
3	Mob	5	O				Jaune		O	O	
4	Hol	4			O		Blanc/Jaune	O		O	
5	Mob	7		O			Jaune		O	O	
6	Mob	6		O			Jaune		O	O	
7	Mob	4		O			Jaune/Jaune	O		O	
8	Mob	4				O	Jaune		O	O	
9	Mob	6				O	Jaune		O	O	
10	Mob	5				O	Jaune		O	O	

**Mob** : Montbéliard. **Hol** : Holstein.

## **ANNEXE III**

### **Composition des milieux de culture utilisés.**

**1) Milieux liquides :** Composition en gramme par litre d'eau distillée.

• Bouillon nutritif :

Extrait de viande.....	5.
Peptone pancréatique.....	10.
Chlorure de sodium.....	5.

PH=7,4

• Bouillon Cœur-cerveau (B.H.I.B) :

Infusat de cerveau.....	12,5.
Infusat de cœur.....	5.
Protéose peptone.....	10.
D (+) glucose.....	2.
Chlorure de sodium.....	5.
Dihydrogène-phosphate de sodium.....	2,5.

PH=7,4+/- 0,2.

• Bouillon au sélénite cystine (Double concentration) :

Peptone tryptique de caséine.....	8.
Lactose.....	8.
Phosphate disodique.....	20.
Sélénite acide de sodium.....	10.
Cystine.....	0,020.

## LES ANNEXE

---

PH=7,00

- Eau physiologique :

NaCl.....9.

- Milieu Mannitol-mobilité :

Peptone tryptique de viande.....20.

Agar.....4.

Mannitol.....2.

Rouge de phénol à 1%.....4 ml.

PH= 7,6 à 7,8

### 2) Milieux Gélésés : Composition en gramme par litre d'eau distillée.

- Base Tampon pour gélose au sang frais :

Extrait de cœur.....10.

Tryptose.....10.

Chlorure de Na.....5.

Agar-Agar.....15.

**A ajouter** le sang..... 50 à 80 ml.

PH=6,8+/- 0,2

- Gélose Hektoen :

Protéose peptone.....12.

Extrait de levure.....3.

Chlorure de sodium.....5.

Thiosulfate de sodium.....5.

## LES ANNEXE

---

Sels biliaires.....	9.
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5.
Salicine.....	2.
Lactose.....	12.
Saccharose.....	12.
Fuschine acide.....	0,1.
Bleu de bromothymol.....	0,065.
Agar.....	14.

PH=7,5

- Gélose nutritive :

Extrait de viande de bœuf.....	1.
Extrait de levure.....	2.
Peptone.....	5.
Chlorure de sodium.....	5.
Gélose.....	15.

PH=7,4

- Gélose Mueller-Hinton :

Infusion de viande de bœuf déshydratée.....	300.
Hydrolysat acide de caséine.....	17, 5.
Amidon de maïs.....	1,5.
Gélose.....	10.

PH= 7,3+/- 0,1

## LES ANNEXE

---

- Milieu Chapman :

Extrait de viande.....	1.
Chlorure de sodium.....	75.
Peptone.....	10.
Gélose.....	15.
Mannitol.....	10.
Rouge de phénol.....	0, 025.

PH= 7,4

### **Préparation de l'étalon 0,5 Mc Farland :**

L'étalon 0,5 Mc Farland, se prépare en versant 0,5 ml d'une solution de BaCl<sub>2</sub> déshydraté à 1% (10g/l), dans une éprouvette de 100ml.

Compléter à 100ml avec du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 1% (10ml). Ainsi préparé l'étalon doit présenter une dose obligatoire 0,10 à 625 nm.

## LES ANNEXE

---

### *Annexe IV*

#### Mode d'action des principaux antibiotiques (Delery, 1999)

MODES D'ACTION	ANTIBIOTIQUESS
Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne	$\beta$ -lactamines pénicilline G pénicillines A pénicillines M carboxypénicillines uréidopénicillines Glycopeptides (vancomycine, avoparcine) Bacitracine
Altération des membranes	Polymyxines
Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	Quinolones
Inhibition de la synthèse protéique	Aminosides Tétracyclines Phénicolés Macrolides-Lincosamides-Streptogramines
Inhibition du métabolisme de l'acide folique	Sulfamides Trimethoprim

## LES ANNEXE

---



Coagulas positive (Couleur jaune)



Colonies de *S. aureus* sur gélose



Antibiogramme