

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

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Microbiologie**  
**Spécialité : Microbiologie Appliquée.**



**Réf :.....**

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

**MASTER**

***Thème***

**Isolement de souches de *Staphylococcus aureus* à partir du lait de mammites et de certains produits laitiers**

Présenté par :

**Maouche Nesrine & Merabet Celia**

Soutenu le : **25 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mme. YAHIAOUI H.

MAA

Présidente

Mme. FARADJI S.

MCA

Encadreur

Mme TAFOUKT R.

MAA

Examinatrice

**Année universitaire : 2017 / 2018**

# Les remerciements

*Nos profonds remerciements au bon DIEU qui a éclairé notre chemin et qui nous a donné la foi et le courage pour réaliser ce modeste travail*

*On adresse nos remerciements les plus distingués à notre promotrice Mme FARADJI qui nous a fait l'honneur de diriger notre travail sans qui ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.*

*Nous sommes conscients de l'honneur que nous fait Mme Yahiaoui en étant présidente du jury, ainsi Mme Tafoukt d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*On leur adresse toutes nos reconnaissances pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Nos remerciements aussi à l'ensemble du personnel du la laboratoire de la faculté microbiologie de Targa Ouzemour pour leur accueil et leur soutien durant toute la période de notre stage pratique ainsi que dans la construction de ce modeste travail.*

*Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années d'étude*

*Merci à tous ce qui, de près ou de loin, ont apporté leur aide pour réaliser et mener à terme ce travail.*

# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à ...*

*A la prunelle de mes yeux, la source de mes efforts,*

*Celle qui ne cesse de croire en moi « Maman ».*

*A mon père qui a été là pour moi.*

*A Mon exemple éternel, mon soutien moral,*

*Celui qui a toujours été là pour moi mon cher frère « Leelou ».*

*A la Plus merveilleuse des sœurs, ma lumière,*

*Celle qui m'a toujours soutenu, motivé et encouragé « Zouzou ».*

*Aucune dédicace ne saurait être assez probante pour exprimer l'affection que je porte pour vous et ce que vous méritez pour le soutien, l'amour, l'encouragement constant et les prières au long de mes études.*

*Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Que le tout puissant, vous préserve et vous procure santé, longue vie et bonheur.*

*Aux membres de la famille Bouaiche .*

*A mon binôme Nesrine.*

*Ainsi qu'à mes amis spécialement : Bombino, Dihia, Rédha, Rime.*

*Et à toute la promotion MA 2017/2018.*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien et pour votre croyance en moi,*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

*Celia.*

# Dédicace :

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A mon très cher PAPA et ma très chère MAMAN*

*Une simple dédicace ne pourrait en aucun cas exprimer tout l'amour que je porte pour vous. Vous m'avez été tout au long de ma vie, une référence de bonté, d'amour, de générosité et de tendresse.*

*Vos prières m'ont été d'un soutien considérable au cours de ce long parcours. Tous les mots ne sauraient exprimer mon respect, ma considération, gratitude et l'amour éternel et inestimable pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour notre bien à moi et à mes frères.*

*Puisse le bon Dieu vous garder et vous procurer santé et longue vie.*

*A ma très chère sœur AIDA et mon petit frère adoré MASSY, je vous souhaite tout le bonheur du monde*

*A tous les membres de la famille MAOUCHE et OUALI : grands parents, oncles, tantes, cousins et cousines*

*A celui qui ma encouragé a jusqu'au bout CHERCH que notre future vie soit amour et bonheur et santé.*

*A ma meilleur amie YASMINE qui a toujours était présente pour moi, je te souhaite beaucoup de réussit dans ta vie.*

*A Kami et Dilô. qlf*

*A mon binôme CELIA*

*A tout mes aimables amis : Imene, Merieme, Ahlem, Houda, Lilia, ...*

*A mes collègues de promotion*

**Nesrine**

## Glossaire

**Abcès :** C'est l'accumulation locale de pus après nécrose dans une cavité, peut être superficielle ou profonde

**Asymptomatique :** Ce terme s'oppose au terme symptomatique, qui veut dire ne présente aucun symptôme clinique.

**Bactéries saprophytes :** ce sont des bactéries qui ne se développent pas dans un organisme vivant, mais se nourrissent de déchets générés au sein de celui-ci.

**Commensal :** Espèces commensales, dont l'une vit associée à l'autre en profitant des débris de ses repas, mais sans lui nuire.

**Epithélium cutané :** Tissu fondamental formant soit un revêtement externe (en surface de la peau) ou interne (en surface d'une muqueuse), soit une glande.

**Furoncle :** infection aiguë d'un follicule pilosébacé due au *staphylocoque aureus*.

**Impétigo bulleux :** est une infection cutanée superficielle due à une infection bactérienne, très fréquente chez l'enfant.

**Ostéomyélite :** maladie infectieuse, chronique ou aiguë, du tissu osseux due au staphylocoque aureus

**Parenchyme :** Ensemble de cellules constituant le tissu sécréteur d'une glande, qualifié de noble ou de fonctionnel, et présentant les caractéristiques d'un organe.

**Peau ébouillantée :** maladie de la peau se caractérise par un décollement de l'épiderme

**Psoriasis :** est une maladie inflammatoire de la peau, se caractérise généralement par l'apparition d'épaisses plaques de peau.

**Rhumatisme :** Le terme rhumatisme regroupe toute maladie aiguë ou chronique entraînant une réaction inflammatoire et douloureuse d'une ou plusieurs articulations

**Tank :** Réservoir à lait ou une cuve réfrigérateur du lait cru issu de la traite des animaux permettant de stoker et de conserver celui-ci

**Trayon :** Bout du pis d'une vache.

**Ubiquitaire :** du nom ubiquité c'est la capacité d'être présent en tout lieu ou en plusieurs lieux simultanément.

## Liste des abréviations

**ATB** : Antibiotique.

**BHIB** : Brain -Heart Infusion Broth (**Bouillon Cœur Cerveille**)

**BN** : Bouillon nutritif.

**BP**: Baird Parker.

**CMT**: California Mastitis Test.

**CS** : Citrate Simmons.

**DCI** : Dénomination commune internationale.

**GC**: Giolitti Cantoni

**MH**: Mueller Hinton.

**MSB**: Manual of systematic Bacteriology

**R**: Résistante.

**RM** : Rouge méthyle.

**S** : Sensible.

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

**SCN** : *Staphylococcus aureus* coagulase négatif

**SCP** : *Staphylococcus aureus* coagulase positive

**TIAS** : Toxi-infection alimentaire staphylococcique

**TSI** : Triple sugar iron.

**VP** : Vogues –Proskauer.

**VP 1** : Vogues –Proskauer 1

**VP 2** : Vogues –Proskauer 2

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Taxonomie de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	6
<b>Tableau II</b> : Toxine impliquées dans la virulence de <i>S.aureus</i> .....	8
<b>Tableau III</b> : lieu de prélèvements .....	11
<b>Tableau IV</b> : Antibiotiques prescrit par des médecins.....	18
<b>Tableau VII</b> : Antibiotiques prescrit par des pharmaciens .....	18
<b>Tableau VIII</b> : Antibiotiques prescrit par des vétérinaires. ....	19
<b>Tableau IV</b> : Liste des disques d'antibiotiques utilisés.....	20
<b>Tableau V</b> : Résultats de tests d'identification faites pour tous les isolats.....	29

## Liste des tableaux en annexes

### Annexe 01 : composition des milieux de cultures utilisés

<b>Tableau I</b> : Giolitti Cantoni.....	
<b>Tableau II</b> : Baird Parker.....	
<b>Tableau III</b> : Bouillon nutritif.....	
<b>Tableau IV</b> : Gélose Mueller-Hinton.....	
<b>Tableau V</b> : Milieu Chapman.....	
<b>Tableau VI</b> : Bouillon cœur –cervelle (BHIB).....	
<b>Tableau VII</b> : Gélose TSI.....	
<b>Tableau VIII</b> : Gélose Citrate de Simmons. ....	
<b>Tableau IV</b> : Milieu Culumdia.....	
<b>Tableau X</b> : Milieu Clark et Lubs .....	

### Annexe 02

<b>Tableau I</b> : Réactifs de la coloration de Gram Violet de gentiane. ....	
---	--

### Annexe 03

<b>Tableau I</b> : Classification des germes responsables de mammites.....	
--	--

### Annexe 04

<b>Tableau I</b> : profil de résistance de souches de <i>S.aureus</i> vis-à-vis des antibiotiques .....	
---	--

### Annexe 05

<b>Tableau</b> : Répartition des résistances des souches par familles .....	
---	--

## Liste des figures

<b>Figure (1) :</b> Mammmites cliniques et mammmites sub-cliniques.....	4
<b>Figure (2) :</b> Différents étapes d'isolement et de purification de <i>S.aureus</i> .....	13
<b>Figure (3) :</b> Représentation test de catalase.....	14
<b>Figure (4) :</b> Résultats du test d'enrichissement sur milieu GC.....	21
<b>Figure (5) :</b> Aspect des colonies de <i>S.aureus</i> sur milieu BP et Chapman.....	22
<b>Figure (6) :</b> Purification sur BN.....	23
<b>Figure (7) :</b> Aspect microscopique des isolats sous microscope optique grossissement X100.....	23
<b>Figure (8) :</b> Test de catalase positif.....	24
<b>Figure (9) :</b> Résultats du test VP et RM sur milieu Clark et Lubs.....	24
<b>Figure (10) :</b> Résultat de test TSI positif.....	25
<b>Figure (11) :</b> Histogramme résultat du test TSI.....	26
<b>Figure (12) :</b> Exemple de résultat du test CS.....	26
<b>Figure (13) :</b> Pourcentage du résultat du test Citrate de Simmons.....	27
<b>Figure (14) :</b> Résultats du test d'hémolyse.....	27
<b>Figure (15) :</b> Résultat du test coagulase .....	28
<b>Figure (16) :</b> Exemple des résultats de l'antibiogramme.....	30
<b>Figure (17) :</b> Histogramme du taux de résistances des isolats de l'antibiogramme pour les souches de <i>S.aureus</i> .....	31
<b>Figure (18) :</b> Pourcentage de résistance des souches par nombre de famille d'antibiotiques..	33
<b>Figure (19) :</b> Taux d'isolats multi résistants et résistants.....	33

### Annexe 3

**Figure 01 :** Coloration de Gram.

### Annexe 6

**Figure 02:** Mise en évidence de la résistance bactérienne par la méthode des disques.



## Table des matières

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Synthèse Bibliographique</b> .....	<b>3</b>
<b>I-généralités</b> .....	<b>3</b>
I.1 Le lait de vache .....	3
I.2 Le lait cru .....	3
I.3 Lait de mammites : .....	3
I.4 Produit laitiers et dérivés .....	4
<b>II. <i>Staphylococcus aureus</i> :</b> .....	<b>5</b>
II.1 Historique.....	5
II.2 Habitat :.....	5
II.3 Classification de <i>Staphylococcus aureus</i> : .....	5
II.4 Caractères bactériologiques : .....	6
II.5 Facteur de virulence :.....	7
II.6 Toxi-infections de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
II.7 Profil de résistance .....	9
<b>Matériel et Méthodes</b> .....	<b>11</b>
<b>I. Lieu de stage :</b> .....	<b>11</b>
<b>II. Echantillonnage :</b> .....	<b>11</b>
<b>III. Isolement de <i>Staphylococcus aureus</i></b> .....	<b>12</b>
III.1. L'enrichissement .....	12
III.2. L'isolement .....	12
III.3. Purification des isolats .....	12
<b>IV. Vérification de la pureté des souches</b> .....	<b>13</b>
<b>V. Identification :</b> .....	<b>15</b>
V.1 Test TSI : .....	15
V.2. Citrate de Simmons : .....	16
V.3. Vogues-Proskauer /Rouge de Méthyle : .....	16
V.4. Test d'hémolyse :.....	16
V.5. Test de coagulas :.....	17
<b>VI. Etude de la sensibilité des souches <i>S.aureus</i> aux antibiotiques « Antibiogramme »</b> .....	<b>17</b>
VI.1. Enquête .....	17
VI.2. Standardisation de l'antibiogramme : .....	17
VI.3. Mode opératoire de l'antibiogramme : .....	17
VI.4. Les disques d'antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme : .....	20
VI.5. Inoculum :.....	21
VI.6. Ensemencement :.....	21
<b>Résultats et discussion</b> .....	<b>21</b>
<b>I.Résultat de l'enrichissement, d'isolement et la purification de <i>S.aureus</i></b> .....	<b>21</b>
I.1. Enrichissement .....	21
I.2. Isolement .....	21
I.3 Purification : .....	22
<b>II- Vérification de la pureté des souches.</b> .....	<b>23</b>

<b>III-Test d'identification de <i>staphylococcus aureus</i></b> .....	<b>24</b>
III.1. Test VP/RM.....	24
III.2. Test TSI.....	25
III.3. Test Citrate de Simmons.....	26
III.4. Test d'hémolyse.....	27
III.5. Test de coagulase.....	28
<b>IV) Résultats de tests d'identification des isolats</b> .....	<b>28</b>
<b>V. Etude de la sensibilité des souches :</b> .....	Erreur ! Signet non défini.
V.2. Antibiogramme : .....	30
<b>Conclusion</b> .....	Erreur ! Signet non défini.
<b>Références bibliographiques</b> .....	
<b>Annexe</b> .....	
<b>Résumé</b> .....	

# *Introduction*

# Introduction

---

Les micro-organismes existent sur la terre depuis des milliards d'années, avant même l'apparition des plantes et des animaux. L'évolution de la diversité microbienne dépasse largement celle des autres organismes. Cette diversité fait partie de leur nombreuses propriétés. Le domaine de Bacteria comportant tous les procaryotes pathogènes connus à ce jour, ainsi que d'autres espèces non pathogènes (Micheal et *al*, 2007).

Parmi les espèces pathogènes les plus connue dans le monde Bacteria on distingue *Staphylococcus aureus*. Cette bactérie appartient à la famille de *Staphylococcaceae*. (Bourgeois et *al*, 1988).

Les bactéries pathogènes sont à l'origine de diverses pathologies et intoxications alimentaires. Plusieurs bactéries et/ou leurs toxines sont impliquées dans les toxi-infections. Ces dernières sont des accidents aigus d'intoxication consécutifs à l'ingestion d'aliments contaminés par des bactéries ou par leurs toxines (Buisson et Teyssou, 2002). C'est pourquoi les antibiotiques ont été utilisés pour les éliminer. Ceci a conduit à l'émergence du phénomène d'antibiorésistance menaçant la santé publique. Pour faire face à ce problème, les études sont orientées vers la recherche des substances antibactériennes naturelles (Ababsa, 2012).

Les produits laitiers sont généralement contaminés par *Staphylococcus aureus*. L'origine de ces contaminations varie en fonction de la nature du produit et de son mode de production et de transformation. La contamination du lait cru et des produits laitiers par *S. aureus* peut être d'origine endogène, telle qu'une mammite ou inflammation des glandes mammaires du ruminant qui peut conduire au transfert de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru. Elle peut aussi être d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (Brisabois et *al*, 1997). *S.aureus* est l'agent étiologique des mammites cliniques et sub-cliniques le plus prépondérant et le plus contagieux (Peles et *al*, 2007).

Le traitement de cette infection requiert l'utilisation massive d'antibiotiques, ce qui est en partie responsable de l'émergence des souches de *S.aureus* résistantes aux antibiotiques chez les troupeaux laitiers (Lallai et *al*, 2008).

## Introduction

---

L'objectif de ce travail consiste à isoler des souches de *Staphylococcus aureus* à partir de lait, le lait de vache mammitique et de certains produits laitiers.

Ce travail comportera deux parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique mettant au point des généralités sur le lait cru, les produits laitiers, les mammites et sur *Staphylococcus aureus*.
- La deuxième partie expose l'ensemble des méthodes expérimentales mises en œuvre pour l'isolement, purification et identification de *Staphylococcus aureus*, et enfin l'étude de la sensibilité des souches de *S.aureus* isolées aux antibiotiques.

*Synthèse*  
*Bibliographique*

## I. Généralités

### I.1. Le lait de vache

Le lait est un liquide alimentaire, opaque blanc mat, légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré l'odeur peu marquée et au goût douceâtre, sécrété, après parturition par la glande mammaire des animaux mammifères femelles, pour nourrir leurs nouveau nés (Mazyoyer, 2007).

### I.2. Le lait cru

Le lait cru est « produit par la sécrétion de la glande mammaire de vaches, et non chauffé au-delà de 40° C ni soumis à un traitement d'effet équivalent. » (FIL, 1991).

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes). (Fredot, 2006).

### I.3. Lait de mammites

L'infection de la mamelle se manifeste par la détérioration de la qualité du lait qui le rend granuleux en effet, une flore bactérienne plus ou moins importante peut se retrouver dans le lait à la sortie de la mamelle. Elle est suivie, le plus souvent par une réaction inflammatoire à l'origine de lésions du tissu mammaire (**Annexe 3 Tableau I**) puis dans le tank. Si cette population devient abondante (certaines bactéries peuvent être pathogènes pour l'homme lors de consommation de lait cru ou de produits laitiers à base de lait cru (Schukken, 1990).

La mammite est la maladie la plus fréquente dans les systèmes de production alimentaire d'origine animale affectant les bovins laitiers, elle est la principale cause d'utilisation des antibiotiques au sein des élevages laitiers (Saini et *al.* 2012).

Les mammites cliniques et sub-cliniques (**figure 1**) représentent une préoccupation majeure en élevage bovin laitier (Aouadi, 1991)

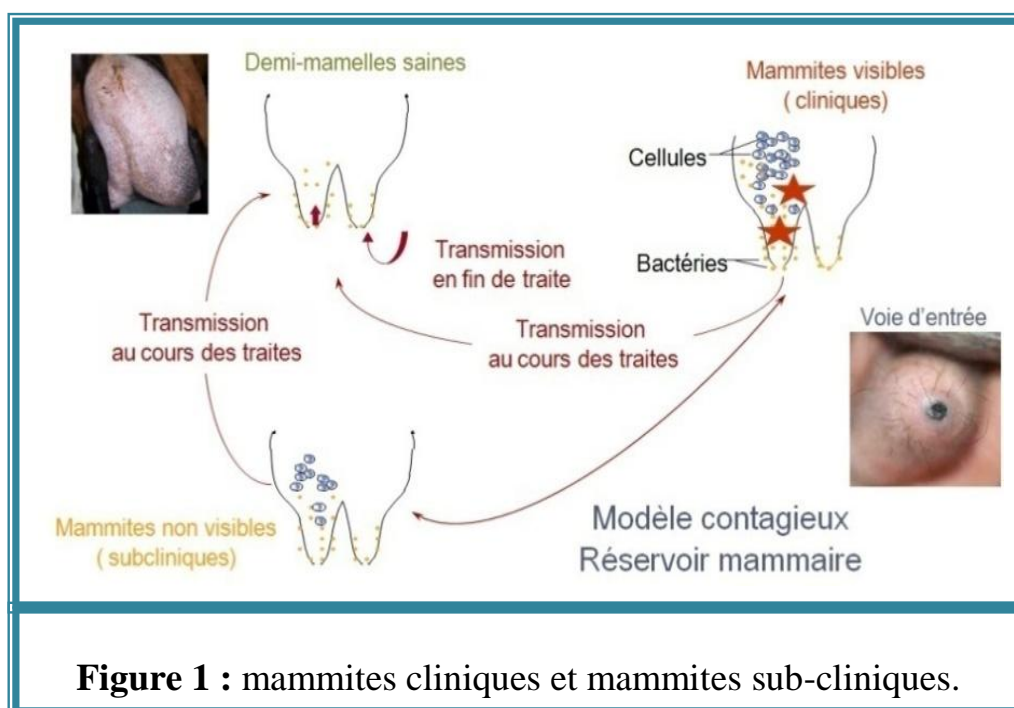
L'infection se définit par la présence et la multiplication d'une population bactérienne dans un ou plusieurs quartiers de la mamelle (Rainard et *al.* 1993).

## Synthèse bibliographique

On retrouve *Staphylococcus aureus* à la surface de la peau de la mamelle et des trayons. En cas de contamination de la mamelle, on peut également la retrouver dans le parenchyme. Ce germe est connu pour sa forte contagiosité. En effet, cette bactérie se transmet principalement pendant la traite et son caractère contagieux s'explique par le fait qu'une vache infectée contamine les vaches saines par l'intermédiaire du manchon trayeur, de remontées de lait ou par l'intermédiaire des mains du trayeur (REMY, 2010).

En présence d'infection à *S.aureus*, l'augmentation du nombre de quartiers infectés dans l'élevage est rapide. (SOMMERHAUSER, 2003).

*S.aureus* a le pouvoir de pénétrer profondément dans la mamelle grâce à un équipement enzymatique performant, il peut alors s'enkyster dans le tissu mammaire. Cette bactérie a la capacité de se mettre à l'abri dans des micro-abcès et dans les cellules (REMY, 2010).



### I.4. Produits laitiers et dérivés

On peut les regrouper sous l'appellation « produits laitiers » un grand nombre d'aliments. Ce groupe comprend le lait, les aliments directement dérivés du lait, les aliments préparés, dont le principal ingrédient est le lait, les béchamels, crèmes fouettées ou glacées, Leben, fromage, Raïbe (Dubost et al, 2006).



## Synthèse bibliographique

---

L'ingestion de ces dernières en présence de certains pathogènes peut causer des intoxications alimentaires et des toxi-infections plus ou moins sévères, certaines souches appartenant principalement à l'espèce *S. aureus* produisent des entérotoxines dont l'ingestion provoque une toxi-infection Alimentaire qui se manifeste par ,l'apparition brutale de nausées, de vomissements, de douleurs abdominales, de crampes et de diarrhée, les symptômes disparaissent habituellement après 24 heures. (Le Loir et al, 2009).

## **II. *Staphylococcus aureus***

### **II.1. Historique**

Les staphylocoques ont été découverts par Pasteur et Koch en 1877 à partir d'un pus de furoncle et d'ostéomyélite, considérés comme une entité unique, Leur implication possible en tant qu'agents pathogènes ne fut démontrée que plus tard par Ogston en 1881, qui mit en évidence des espèces saprophytes colonisant la peau, et d'autres responsables de furoncles et de surinfections de plaies. (Hill, 1981).

*Staphylococcus aureus* communément appelé staphylocoques doré, est un staphylocoque à coagulase positive. Il a été, nommé ainsi par Rosenbach en 1884 en raison de la production de caroténoïdes donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique (Couderec, 2014).

### **II.2. Habitat**

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont ubiquitaires, peu exigeantes et capables de vivre dans de nombreux sites, essentiellement en saprophyte de l'environnement extérieur, mais aussi en commensal des épithéliums cutanés et muqueux des hommes et des animaux, l'homme constitue un réservoir de plusieurs espèces de staphylocoques, dont *Staphylococcus aureus*. La bactérie colonise la peau, le tube digestif et la région périnéale des nouveau-nés (Wertheim, 2005).

### **II.3. Classification de *Staphylococcus aureus* :**

Selon la 9ème édition du Bergey's Manual, les staphylocoques sont Classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC, l'introduction de techniques génomiques en 1976 a

## Synthèse bibliographique

---

permis la vérification de certaines classifications tout en engendrant de nombreuses modifications, amenant progressivement à la taxonomie actuelle (Hill, 1981) (**Tableau I**).

**Tableau I:** taxonomie de *Staphylococcus aureus* (Prescott, 2010).

Règne	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

### II.4. Caractères bactériologiques

#### II.4.1. Caractères Morphologiques

Les Staphylocoques sont des cocci à coloration de Gram positive d'environ 1 µm de diamètre, se disposant le plus souvent en amas ou grappes. Ils sont immobiles et ne produisent pas de spores. S'ils sont généralement capsulés *in vivo*, ils perdent progressivement leur capsule en culture, Ils sont aéro-anaérobies facultatifs, capables de se multiplier en milieu ordinaire entre 10 et 42 °C, avec un optimum thermique à 37 °C et à un pH compris entre 7,4 et 7,6.

*Staphylococcus aureus* possède également la faculté de se multiplier sur milieux sélectifs hyper salés. (Flandrois, 1997).

Sur les milieux gélosés couramment utilisées (Baird Parker, Mueller Hinton, Columbia ...), *S.aureus* produit des colonies circulaires, a bords réguliers, bombées et luisantes. Leur diamètre varie de 1 à 3 mm après 24h à 37°C et de 3 à 10 mm après 5 jours, plusieurs souches de *S.aureus* produisent des colonies pigmentées en jaune doré plus ou moins intense et des colonies à centre noir entourée d'un halo clair sur Baird Parker (Sutra *et al*, 1998).

### II.4.2. Caractère biochimique

Les Staphylocoques produisent une catalase, le critère de base de leur classification est la production de coagulas. (BOURGEOIS *et al*, 1988).

Les staphylocoques à catalase positive et oxydase négative, la production d'une coagulas, d'un pigment caroténoïde jaune doré et la présence d'une protéine A de paroi caractérisent *Staphylococcus aureus* (SCP). Les autres espèces sont regroupées sous le terme de staphylocoques à coagulas négative (SCN). (Mee-Marquet *et al*, 2004).

### II.5. Facteur de virulence :

*Staphylococcus aureus* possède de nombreux facteurs de virulence et de pathogénicité (facteur d'adhésion, toxines, enzymes) et exerce son pouvoir pathogène par la libération d'une ou de plusieurs toxines, les entérotoxines libérées par les bactéries sont responsables de toxi-infections alimentaires (**Tableau II**).

La production de toxines à l'origine du syndrome de choc toxique staphylococcique est plus rare. Enfin, la leucocidine de Panton-velentine est une toxine qui crée des pores dans la membrane des cellules, elle est associée à des infections cutanées. (Shallcross *et al*, 2013).

## Synthèse bibliographique

**Tableau II** : Toxines impliquées dans la virulence de *S.aureus* .(MacKinnon et al, 2000)

Famille	principales toxines	Mécanismes d'action ou syndromes toxiques spécifiques
Toxines antigéniques super	Toxines du choc toxiques staphylococcique Enterotoxines A à E, G, I, U	Choc toxique staphylococcique par activation du système immunitaire et libération de cytokines de l'inflammation. Réaction auto-immune (psoriasis, rhumatisme ....) Intoxication alimentaire
Toxines formant des pores	Toxines à hélice alpha Alpha-hémolysine Gamma-hémolysine Leucocidine de panton-valentine	Destruction des cellules de défense de l'hôte par inflammation de pores au niveau des membranes cellulaires
Toxines à activité protéolytique	Exfoliatines	Syndrome d'exfoliation généralisé (ou syndrome staphylococcique de la peau ébouillantée) Impétigo bulleux staphylococcique

### II.6. Toxi-infections de *Staphylococcus aureus*

Les toxi-infections alimentaires à *S.aureus* sont en réalité des intoxications dues à la l'ingestion d'aliments dans lesquels une souche de *S.aureus* s'est multipliée et a produit une ou plusieurs entérotoxines (kéroanton et al, 2007).

La dose infectieuse d'entérotoxines staphylococciques est d'environ 1ng/g d'aliment ce taux est atteint lorsque la population de *S.aureus* excède les ( $10^5$  cellules/g). Cependant, les entérotoxines seraient détectables même à un niveau de *S.aureus* faible ( $10^3$ cellules/g) (Lamprell, 2003).

## Synthèse bibliographique

---

Les symptômes les plus fréquemment observés lors de ces intoxications sont des vomissements violents et répétés, des nausées, des diarrhées aqueuses et des douleurs abdominales. Occasionnellement peuvent être observés : maux de tête, transpiration, frissons, crampes musculaires, faiblesse générale, hypotension, et prostration. Les TIA à *S.aureus* étant dues à des toxines préformées dans l'aliment et non à une colonisation digestive par une bactérie entéropathogène, il n'y a en général pas de fièvre ou une fièvre modérée (Michel, 2005).

Les symptômes surviennent après une période d'incubation courte, entre 2 et 4 heures en moyenne après la consommation du repas contaminé, et disparaissent spontanément après 18 à 24 heures. Les cas de décès à la suite de TIA à *S.aureus* sont très rares et surviennent chez les jeunes enfants et les personnes âgées à la suite d'une déshydratation brutale provoquée par les vomissements et les diarrhées (Michel, 2005).

### II.7. Profil de résistance

Chez *S.aureus*, l'émergence de la résistance aux antibiotiques peut être considérée comme une série de vagues de résistances (Chambers, 2009).

#### II.7.1. Résistance à la Pénicilline G

La sécrétion de pénicillinases est présente chez 70 à 90 % des *S. aureus*. Lorsque le laboratoire de bactériologie signale une résistance à la pénicilline (sans résistance à l'oxacilline), celle-ci implique aussi une résistance à l'ampicilline, l'amoxicilline. En revanche, les pénicillines associées à un inhibiteur de pénicillinase (acide clavulanique) ou les  $\beta$ -lactamines insensibles aux pénicillinases (céphalosporines, imipenem) restent actives. Fait important en pratique, les céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, ceftriaxone) sont dix fois moins actives que l'oxacilline sur le staphylocoque, ce qui rend leur utilisation illogique en dehors des cas d'infections mixtes. (Leclercq, 2002).

#### II.7.2. Résistance aux aminosides

Les staphylocoques sont normalement sensibles à tous les aminosides, les aminosides sont surtout utilisés en association avec les  $\beta$ -lactamines ou les glycopeptides avec lesquels, ils synergisent en bactéricidie (Bismuth, 2000).

L'aminoside le plus communément touché chez les SARM est L'amikacine car plus de 90 % d'entre eux expriment une résistance à la Kanamycine. Cet antibiotique devrait être a priori évité dans les infections à staphylocoques. D'autre part, gentamicine est moins touchée (chez environ 5-30 % des SARM). (Leclercq, 2002).

### **II.7.3. Résistance aux fluoroquinolones**

Les résistances du staphylocoque aux fluoroquinolones sont liées à des mutations dans les cibles, impliquées dans la synthèse de l'ADN bactérien, d'autres mécanismes de résistance telle que l'effet de perméabilité, des pompes d'efflux et une diminution de la disponibilité des quinolones sur le site cible peuvent également être impliquée ; des gènes ont été détectés tels que des gènes QRDR des gènes *gyrA* et *gyrB*. La résistance est croisée entre diverses fluoroquinolones tel que (péfloxacin, Ofloxacin, ciprofloxacine, lévofloxacine) ( Rasha et al ,2013).

### **II.7.4. Résistances aux autres antibiotiques**

L'Acide Fusidique est toujours actif. Il est utilisé qu'en association pour éviter la sélection de mutants résistants. Les glycopeptides ne sont pas des bons antibiotiques qui malgré leur activité sur les souches multirésistantes, présentent plusieurs défauts : CMI élevée (1 à 2 mg·L<sup>-1</sup>), vitesse de bactéricidie lente (48 heures), et faible diffusion intracellulaire et tissulaire (Bismuth, 2000).

### **II.7.5. Résistance à la Méthicilline**

Le gène *mecA* codant une protéine liant la pénicilline additionnelle appelée PLP2a rend la bactérie résistante à la quasi-totalité de cette classe d'antibiotique, notamment à la méticilline ou à l'oxacilline(Jorgensen,1991). un nouveau gène de résistance à la méticilline appelé *mecC* codant une nouvelle PLP (PLP2c) a été mis en évidence à partir de souches humaines et bovines de *S. aureus*. Les SARM porteurs du gène *mecC* possèdent un profil de résistance original, caractérisé par une faible expression de la résistance à l'oxacilline( Skov 2014).

*Matériel*  
*Et*  
*Méthodes*

## Matériel et méthodes

### I. Lieu de stage :

Le présent travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie **01 Bloc 09** de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Abderrahmane Mira de Béjaia, sous la direction de Dr. Faradji afin d'isoler des souches de *Staphylococcus aureus* à partir des échantillons de lait et de produits laitiers .

### II. Echantillonnage :

Un ensemble de 11 échantillons prélevés à partir de produits laitiers et de lait de vache mammiteux ont été recueilli, à partir de plusieurs régions de Béjaia, «Aokas, Merjwaman, Oued Amizour, Tazeboujt, EL Qods, Laazib Oumaamer ».

**Tableau III:** Lieu de prélèvement

Produit	Echantillon	Région
Lait cru	E1 (S1,S2,S3,S4,S5)	Ferme à Oued Amizour(Amizour)
	E2(S3,S4)	Ferme à Merjwaman(Amizour)
	E3(S5,S6)	Laiterie à El Qods(Bejaia)
	E4(S25,S26,S27,S28,S29,S30,31)	Ferme à Tajzboujt(Bejaia)
Lait mammiteux	E5(S1,S2,S3)	Vétérinaire à Aokas(SoukElTenine)
	E6(S4,S5)	Vétérinaire à Merjwaman(Amizour)
L'ben	E7(S1,S2)	Ferme à Oued Amizour(Amizour)
	E8(S3,S4)	Laiterie Laazib Oumaamer(Bejaia)
	E9 (S4,S5,S6,S7)	Laiterie El Qods(Bejaia)
Beurre	E10 (S1, S2)	Laiterie El Qods(Bejaia)
	E11 (S3, S4)	Ferme à Oued Amizour(Amizour)

#### II.1. Conservation des échantillons

Les échantillons prélevés ont été refroidis rapidement en les déposant sur de la glace ou au réfrigérateur pour être transportés au laboratoire dans une glacière dans une durée qui ne dépasse pas 2 heures ; Tous les milieux de culture qui sont utilisés dans cette partie sont illustrés dans (**l'annexe I**)



### III. Isolement de *Staphylococcus aureus*

#### III.1. L'enrichissement

Pour l'enrichissement des échantillons, le bouillon de Giolitti Cantoni (GC) est utilisé pour *Staphylococcus aureus* dans les denrées alimentaires (Giolitti et al, 1966).

A l'aide d'une micropipette, 1 ml / 1mg de l'échantillon est ajouté à 9 ml de GC + tellurite de potassium. Le milieu est recouvert avec une fine couche d'huile de paraffine stérile pour l'anaérobiose. La lecture se fait au terme de l'incubation à 37°C entre 24 à 48 heures (**Figure 2**).

#### III.2. L'isolement

La gélose de Baird Parker (BP) additionnée de jaune d'œuf et de tellurite de potassium est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement de *Staphylococcus aureus*. A partir du milieu GC (avec noircissement), un ensemencement par stries est réalisé sur le milieu Baird Parker (DeWaart et al, 1968). L'incubation se fait de 24 à 48 heures à 37° C (**figure 4**). Un résultat positif consiste à avoir des colonies au centre noir, entourées d'un halo clair.

#### III.3. Purification des isolats

Cette étape est importante afin de purifier toutes les souches isolées auparavant. A l'aide d'une anse de platine on prélève une colonie bien isolée et défini (un centre noir avec un halo clair) sur le milieu Baird Parker puis on la décharge dans un tube qui contient 9 ml de bouillon nutritif. L'incubation se fait à 37°C pendant 48h. Cette étape est refaite plusieurs fois (**2 à 3 fois**) afin d'avoir des souches pures (**Figure 4**).

## Enrichissement :

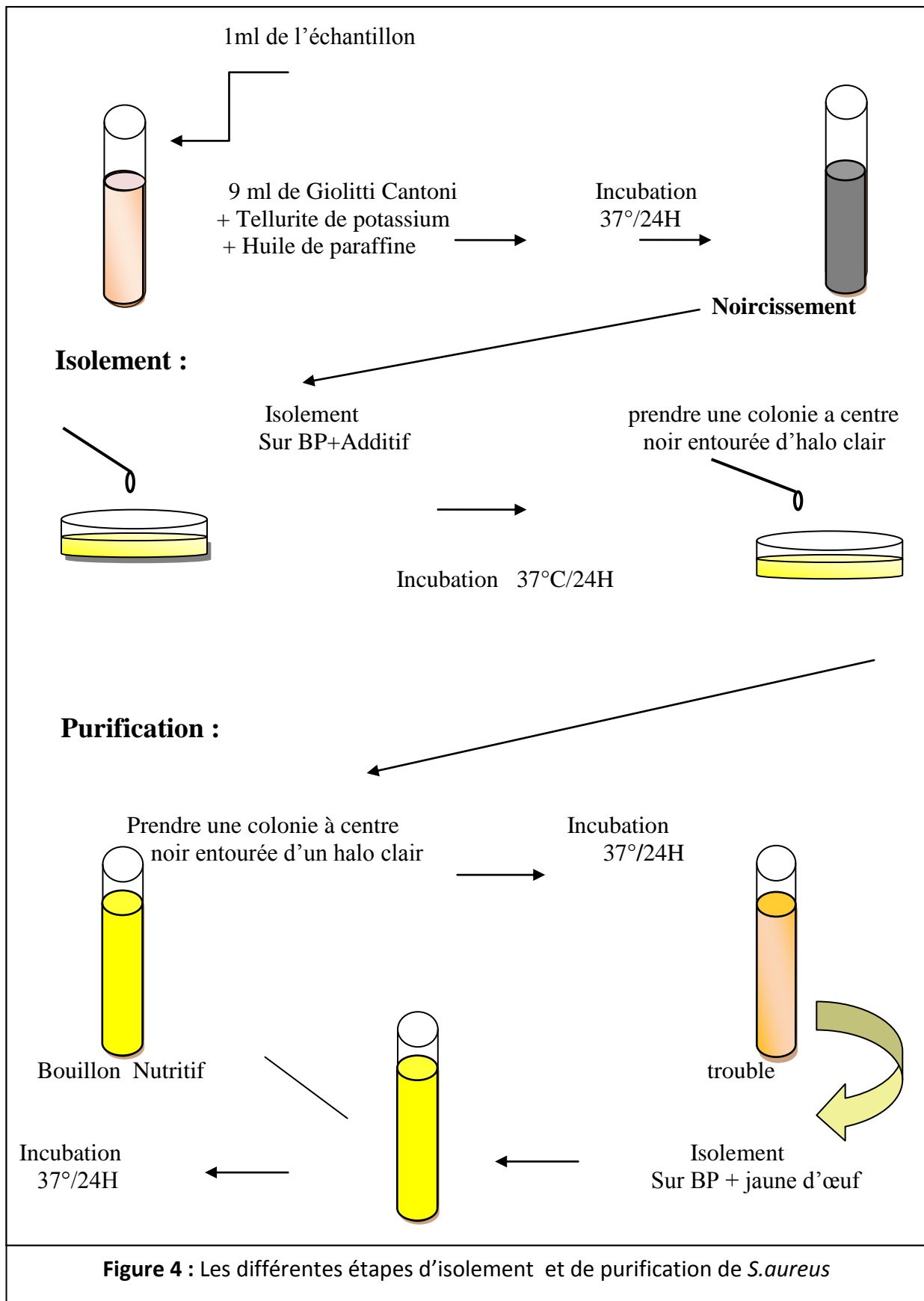


Figure 4 : Les différentes étapes d'isolement et de purification de *S.aureus*

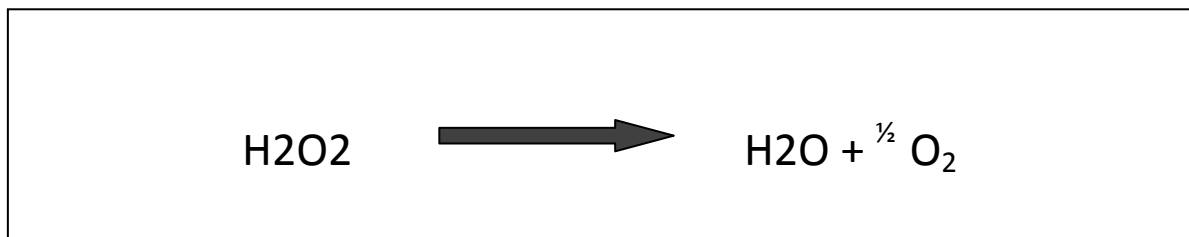
## IV.1. Caractère Cultureux

Consiste à étudier la forme, l'aspect, le contour, la surface et la couleur des colonies sur les milieux BP et Chapman. La recherche de la catalase a été réalisée afin de déterminer le type de la catalase.

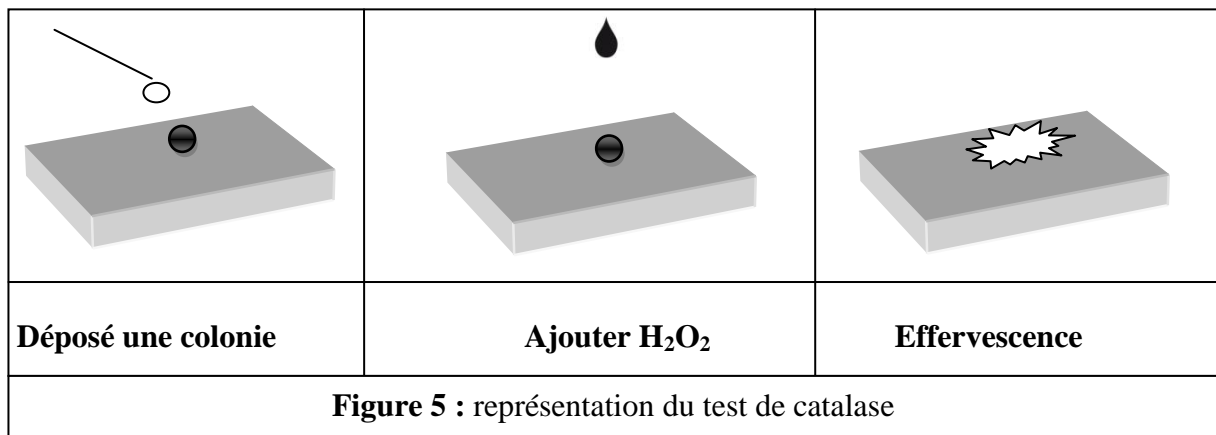
### IV.1.1. Test de catalase

Après l'isolement sur le milieu Baird Parker de 24 h, on prélève une colonie bien distincte et on dépose sur une lame, une goutte de peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  sera ajoutée à la colonie (MacFaddin, 2000).

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en  $H_2O$  et  $\frac{1}{2} O_2$ .



Une apparition d'une effervescence, Signifie que le résultat est positif.



### IV.2. Etude microscopique

Après une coloration de Gram une observation microscopique des souches isolées est réalisée dans le but de déterminer la morphologie et le type de Gram (+ ou -).

#### IV.2.1. Coloration de Gram

Cette technique de coloration est utilisée dans l'étude et la classification des bactéries en deux grands groupes : les bactéries à *Gram* positif et à *Gram* négatif. Le principe de cette méthode, est mis au point de façon empirique par le bactériologiste danois GRAM en 1884 ( **Figure 1 Annexe 3**).

### V. Galerie biochimique

Dans cette étude, toutes les souches à Gram + et Catalase + sont retenues. Pour la suite de l'identification biochimique et phénotypique, les tests suivants sont réalisés :

#### V.1. Test TSI

Prélèvement d'une colonie caractéristique à partir d'une culture fraîche sur milieu Baird Parker, puis suspendue dans de l'eau physiologique, et grâce à une pipette Pasteur une goutte de cette dernière est ensemencée par une piqûre centrale au niveau du culot et par des stries à la surface tout au long de la pente. Au terme d'une incubation pendant 24 h à 37°C, (Guiraud *et al*, 1980). Une lecture est réalisée comme suit :

➤ **Fermentation de glucose**

**Culot rouge** : glucose non fermenté

**Culot jaune** : glucose fermenté

➤ **Fermentation du lactose et/ou du saccharose**

**Pente inclinée rouge** : lactose et saccharose non fermentés

**Pente inclinée jaune** : lactose et/ou saccharose fermentés

➤ **Production de gaz**

Apparition de gaz dans le culot.

➤ **Formation d'H<sub>2</sub>S**

Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre. (Sulkin, 1940).

### V.2. Citrate de Simmons

Prélèvement à partir du milieu Baird Parker d'une colonie caractéristique qui est suspendue dans de l'eau physiologique, à l'aide d'une anse de platine une goutte de la suspension est ensemencée en strie sur toute la surface de la pente, au terme d'incubation de 7 jours à 37°C, (Guiraud et *al*, 1980).

Le résultat se traduit comme suit :

La dégradation du citrate se traduit par une alcalinisation du milieu révélé par le virage du bleu de bromothymol à sa teinte initiale. (Obréa et Buttaux, 1982).

### V.3. Vosges-Proskauer /Rouge de Méthyle

Prélèvement à partir d'une culture de 24 h sur milieu BP, on prend une colonie et on l'introduit dans le bouillon de Clark et Lubs. L'incubation se fait pendant 24h à 37° C.

Dans le cas où il y a présence d'un trouble dans le milieu Clark et Lubs, la suspension est divisée sur deux tubes, (Guiraud et *al*, 1980).

Les deux tests se font comme suit :

- **VP**

Trois gouttes de VP 1 puis 3 gouttes de VP 2 sont ajoutées, dans le cas d'un virage de couleur du jaune au rouge, le résultat est considéré positif, (Obréa et *al*, 1982).

- **RM**

Trois gouttes de rouge de méthyle à la suspension bactérienne, le changement de couleur immédiat du jaune au rouge, signifie que le résultat est positif, (Obréa et *al*, 1982).

### V.4. Test d'hémolyse

Prélèvement d'une colonie caractéristique à partir d'une culture fraîche sur milieu Baird Parker et suspendue dans de l'eau physiologique, à l'aide d'une anse de platine une goutte de la suspension est ensemencée en stries le milieu gélose au sang , Au terme d'une incubation pendant 24h à 37°C. Eclaircissement du milieu après 24 h, signifie que le résultat est positif et qu'il y a eu hémolyse du sang par la souche.

### V.5. Test de Coagulase

A partir d'une culture de 24 h sur milieu Baird Parker, une colonie caractéristique est suspendue dans de l'eau physiologique, à l'aide d'une micropipette, 1 ml est transféré dans 9 ml de (BHIB). Au terme d'une incubation de 18h à 37°C, en cas de trouble du milieu ; on prend 0.5 ml de cette dernière et on rajoute 0.5 ml de plasma de lapin qu'on met dans un Eppendorf.

L'observation de la coagulation du plasma est réalisée chaque 3min puis après 2 h et 6h. (Joffin et al, 2001).

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

### VI.1. Préparation de l'inoculum

La standardisation de l'antibiogramme sert à fixer l'inoculum de départ, Elle est de  $10^8$ UFC/ml pour les bactéries à Gram positive (CA-SFM 2018)

### VI.2. Réalisation de l'antibiogramme

Cette méthode consiste à déposer des disques d'antibiotiques sur la totalité de la surface de la gélose Muller Hinton ensemencée à partir d'une colonie caractéristique suspendue dans de l'eau physiologique.

### VI.3. Enquête

Nous avons effectué une enquête au niveau de Bejaia auprès de certains médecins et pharmaciens, dans le but de mettre en évidence les différents antibiotiques destinés aux traitements des humains et des animaux dans le cas d'une mammite, notamment les vaches ou d'une toxi-infection chez les humains.

Les antibiotiques les plus administrés ont été testés vis-à-vis des souches de *S.aureus* identifiées afin de vérifier si il y'a eu émergence de résistances vis à-à-vis de *S.aureus* ; Cette enquête nous a permis de déduire que les antibiotiques les plus prescrits et administrés par les médecins et les vétérinaires sont les suivants :

## Matériel et méthodes

### V.1.1. Médecins

**Tableau VII** : Antibiotiques prescrit par les médecins.

Médecins	Nom commercial	DCI
<b>Dr MAOUCHE</b>	*BACTRIM 400mg/80mg	- Sulfaméthoxazole
	*Primazol 400mg/80mg forme orale	- Triméthopriime
	*Cotrim 200mg/40mg/5ml solution buvable	
<b>Dr à l'UMB</b>	*BACTRIM forme orale	- Sulfaméthoxazole - Triméthopriime
	*BACTRIM solution injectable pour perfusion	- Sulfaméthoxazole - Triméthopriime
	*FLAGYLE 500mg ovule.	- Métronidazole
	*FLAGYLE 500mg/100ml Solution injectable.	- Métronidazole
	*FLAGYL Comprimé, suspension buvable	- Métronidazole

### V.1.2. Pharmaciens

**Tableau VI** : Antibiotiques prescrit par les pharmaciens.

Pharmacie	Nom commercial	DCI
Pharmacie OUALI	COTRIMOXAL forte	- Sulfaméthoxazole - Triméthopriime
	SUPRIM	- Corimoxazole.

### V.1.3. Vétérinaires

**Tableau VIII** : Antibiotiques prescrit par des vétérinaires.

Vétérinaires	Nom commerciale	DCI
Dr TOUATI / Dr IDIRI	Synulox	- Amoxicilline + acide Celavulanique (voie locale)
	Mami fort sécado	- ampicilline - cloxacilline
	Bombe à gaz	- Rifaximine
	Mammitel	- Cloxacilline - Colistine
	MASTI JET	- Tétracycline - Néomycine - Bacitracine



### VI.4. Liste d'antibiotiques testés :

Afin de réaliser l'antibiogramme une liste d'antibiotiques a été testée sur les souches isolées (Tableau IV).

**Tableau IV** : Liste des disques antibiotiques testés (EUCAST, 2017)

Antibiotiques	Abréviations	Charge	Famille	Diamètres critiques (mm) (EUCAST, 2017)	
				S	R
Acide Fusidique	FC	10 µg	Fusidanines	≥24	<24
Imipenem	IMI	10 µg	Bêta-lactamines	≥21	<18
Gentamicine	CN	10 µg	Aminoside	≥18	<18
Triméthoprim sulfaméthoxazole	SXT	25 µg	Sulfamide	≥17	<14
Céfoxitine	FOX	30 µg	Bêta-lactamines	≥22	<21
Cefotaxime	CTX	30 µg	Bêta-lactamines	≥20	<17
Amoxicilline	AMX	30 µg	Bêta-lactamines	≥19	<19
Amoxicilline +clavulanic acide	AUG		Bêta-lactamines	≥25	<19
Céfépime	FEP	30 µg	Bêta-lactamines	≥19	<19
Tétracycline	TE	30 µg	Tétracycline	≥22	<19
Ceftaroline	CPT	5 µg	Bêta-lactamine	≥21	≤19
Ciprofloxacine	CIP	5 µg	Fluorouinolone	≥21	<21
Oxacilline	OX	5 µg	Bêta-lactamines	≥26	<26

### VI.5. Inoculum

A partir d'une culture bactérienne pure et fraîche sur milieu d'isolement Baird Parker :

- Prélever à l'aide d'une anse de platine 5 colonies bien définies (Centre noir entourée d'un halo).
- Décharger les colonies dans 5mL d'eau physiologique.
- Homogénéisation de la suspension bactérienne.

### VI.6. Ensemencement

L'ensemencement sur Milieu Muller Hinton a été réalisé selon les étapes suivantes :

- Imbiber un écouvillon dans le tube qui contient la suspension bactérienne.
- Presser l'écouvillon contre la paroi interne du tube pour diminuer au maximum la charge bactérienne.
- Ensemencement en strie l'écouvillon sur toute la surface de la gélose MH de haut en bas en pivotant l'écouvillon et la boîte de pétri.
- Disposition des disques d'antibiotique a testé à la surface de la gélose MH.
- L'incubation se fait à 37°C pendant 18 h.
- Observation de colonies bactériennes sur toute la surface de la gélose MH et formation de zone d'inhibition autour des disques antibiotiques (**Annexe 5**).

*Résultats*  
*&*  
*Discussion*

## Résultats et discussion

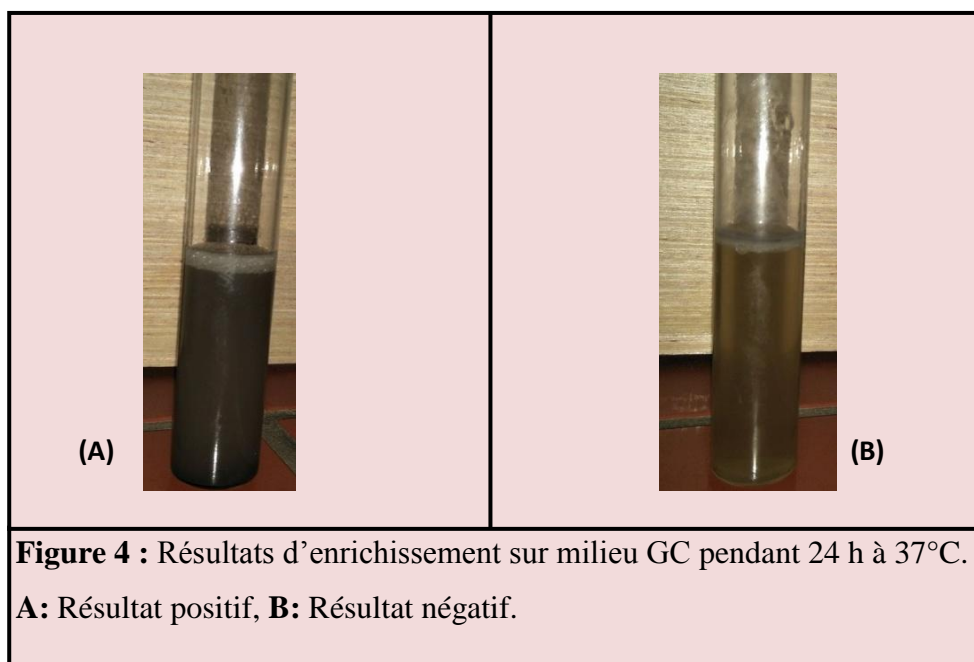
À partir d'une dizaine de prélèvements d'échantillons qui ont été réalisés au niveau du laboratoire, **58** isolats ont été obtenus, pour lesquels une identification phénotypique et biochimique a été réalisée.

### I. Résultats de l'enrichissement, d'isolement et la purification de *S.aureus*

#### I.1. Enrichissement

Après incubation sur milieu Giolotti Cantoni les tubes doivent présenter un noircissement ou une couleur grisâtre (Lambin et *al*, 1961).

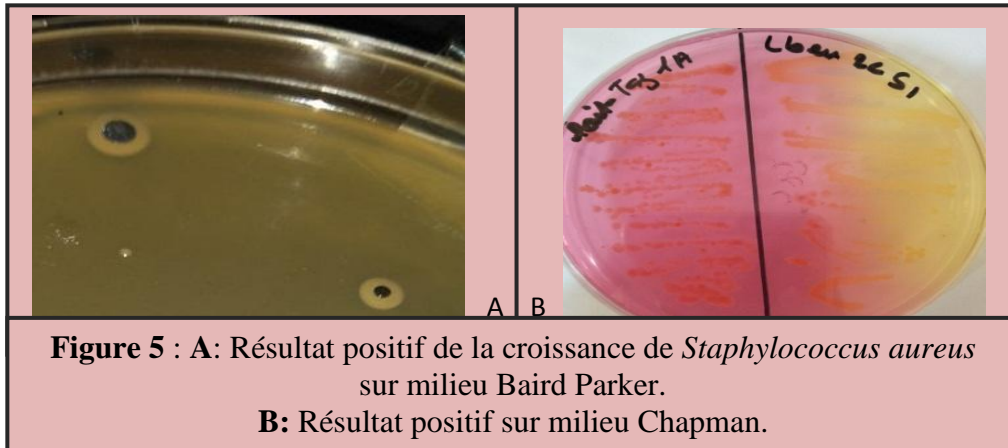
Dans notre étude, sur les **58** échantillons pour lesquels nous avons effectué un enrichissement ; **47** entre eux était positive (présente un noircissement) après incubation sur le milieu Giolotti Cantoni (**Figure 4**).



#### I.2. Isolement

Les souches ont été ensemencées par des stries sur la gélose Baird Parker et la gélose Chapman, et incubées à 37°C pendant 24h. On observe respectivement des petites colonies noirâtres entourées par un halo clair (**A**) et des colonies blanches avec virage de la couleur du milieu (**B**), signifie que c'est probablement une souche de *Staphylococcus aureus* (**Figure 5**).

## Résultats et discussion



Dans une étude réalisée sur des vaches en Tunisie, a montré une fréquence d'isolement de germes faible de (17%) mais une prédominance de *Staphylococcus aureus* a été remarquée (Hassen et al, 2003).

Une étude menée en Italie a montré la fréquence d'isolement la plus élevée de l'espèce *Staphylococcus aureus* chez les mammites clinique (44,7%) (Longo et al, 1994).

Une étude a été menée au Sénégal sur les mammites bovines, une fréquence d'isolement de *Staphylococcus aureus* de 35,85% a été obtenue (Konte et al. 1988).

Des prélèvements dans l'Est d'Algérie ont fait l'objet d'analyse par le test California Mastitis Test; Des mammites à staphylocoques ont été présentes dans 40% sur un total de 556 prélèvements de lait réalisé sur 140 vaches (Heleili et al, 2012).

### I.3. Purification

Des isolements répétés et alternés au bouillon Nutritif sur le milieu Baird Parker, additionnés d'additif on permit de purifier les 47 isolats (Figure 6).



**Figure 6:**  
Purification sur BN

### I. Vérification de la pureté des souches.

#### I.1. Coloration de Gram

Les résultats de la coloration de Gram des isolats ont révélé que les 47 isolats sont Gram+, *Staphylococcus aureus* se présente sous forme d'une grappe de raisin (**figure 7**).



**Figure 7 :** Observation d'un isolat sous Microscope Optique, grossissement X100.

Ce résultat microscopique confirme l'aspect caractéristique de différents isolats *Staphylococcus aureus* (Becker et al, 2004).

### II.2. Test de catalase

La totalité des isolats (47 souches) sont catalase (+) (Figure 8).



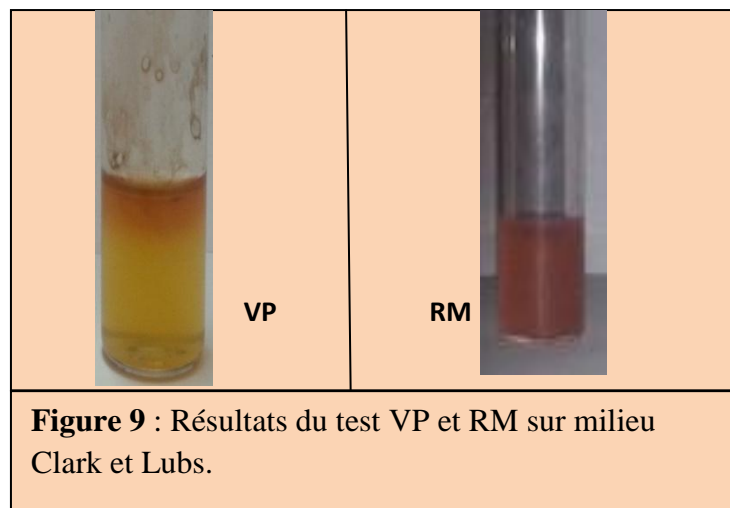
**Figure (8) :** Test de catalase positif.

### III. Test d'identification de *Staphylococcus aureus*

Les tests d'identification ont permis de confirmer l'appartenance des souches isolées à l'espèce *Staphylococcus aureus*.

#### III.1. Test VP/RM

Les résultats du test de Clark et Lubs sont positif pour les **47** souches, ce qui représente un pourcentage de **100%** (Figure 9).

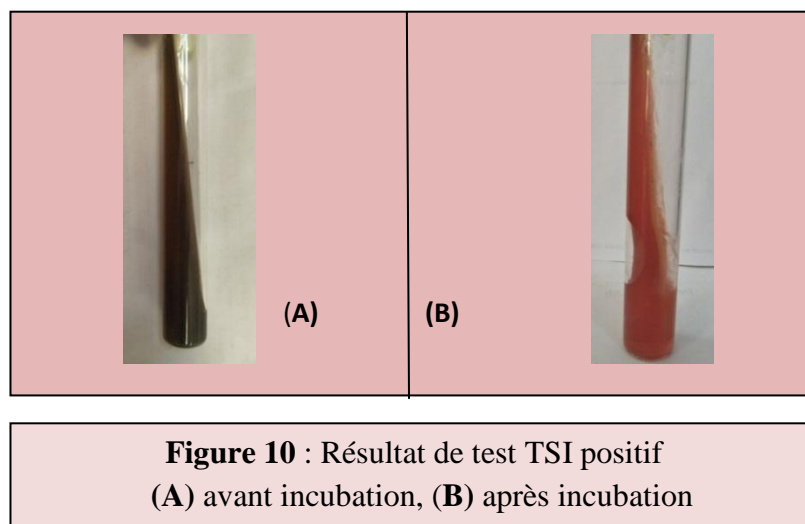


**Figure 9 :** Résultats du test VP et RM sur milieu Clark et Lubs.

Le changement de couleur du jaune au rouge après ajout de VP1/VP2 confirme un résultat positif (Obréa et al, 1982), Ainsi pour le virage de couleur du milieu après ajout de RM (Obréa et al, 1982).

### III.2. Test TSI

Les résultats sont montrés dans la figure ci-dessous.



Les résultats obtenus sont résumés comme suit :

#### - Fermentation de glucose

Les résultats montrent que **23** souches n'ont pas fermenté le glucose (**68.08%**) et **15** souches fermentent le glucose (**31.91%**).

#### - Fermentation du lactose et/ou du saccharose

Sur l'ensemble des **47** isolats, **36** souches soit (**76.59%**) fermentent le lactose et le saccharose, tandis que 11 souches (**23.40%**) restantes ne fermentent aucun des deux sucres.

#### - Production de gaz

Sur l'ensemble des 47 isolats 28 souches soit (**59.57%**) ont pu produire de gaz.

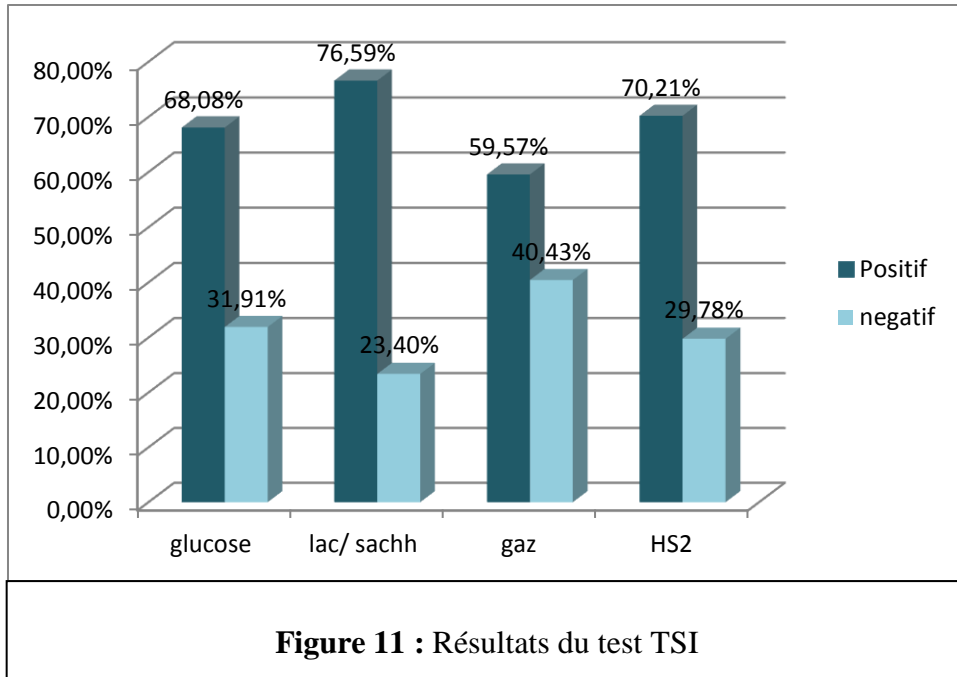
#### - Formation d' $H_2S$ :

Sur l'ensemble des **47** isolats, 33souches soit (**70.21%**) ont formé le sulfure d'hydrogène  $H_2S$  tandis que les **14** souches restantes soit (**29,78%**) n'ont pas de bulles de gaz .

Les résultats sont résumés dans la (**Figure 11**).

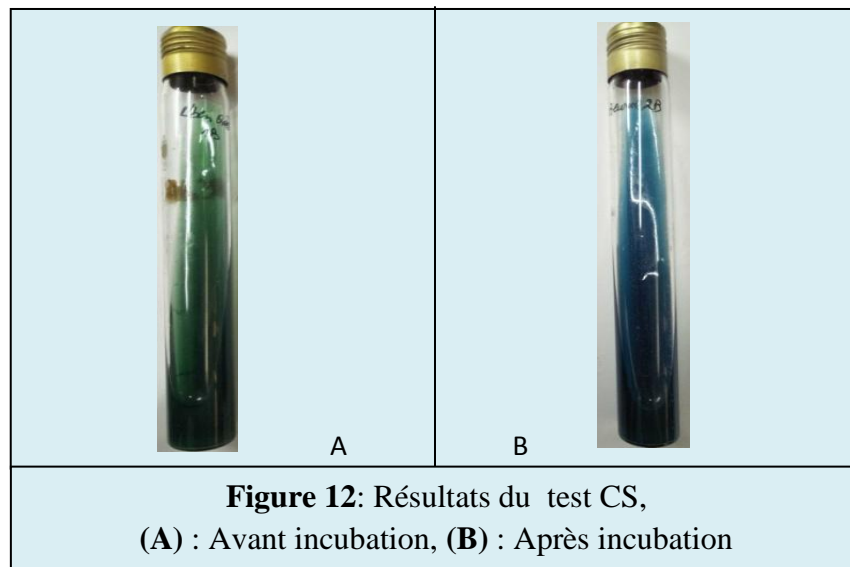


## Résultats et discussion



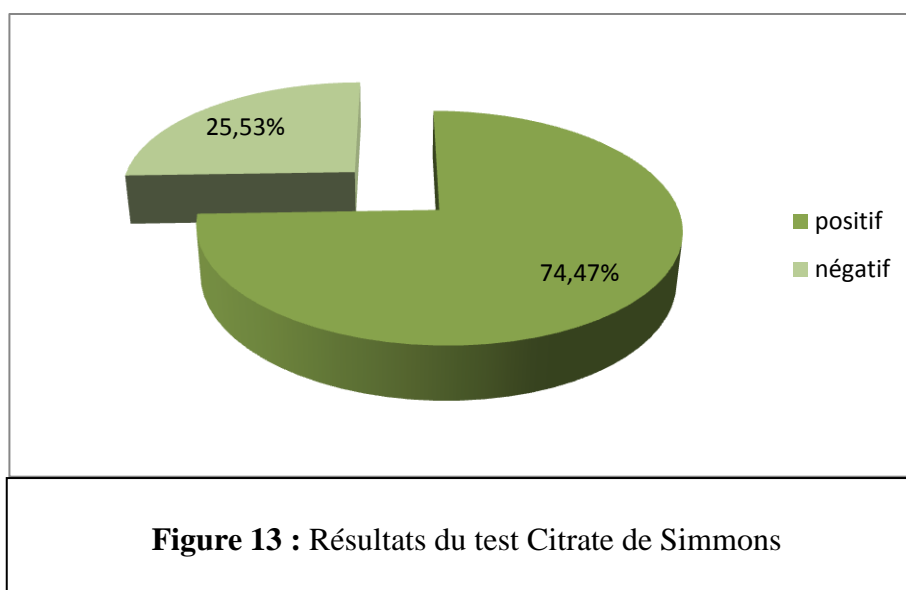
### III.3. Test Citrate de Simmons

Les résultats du test Citrate de Simmons montrent 74,47% qui sont positif (35 Souches), tandis que le reste était négatif (25,53%)



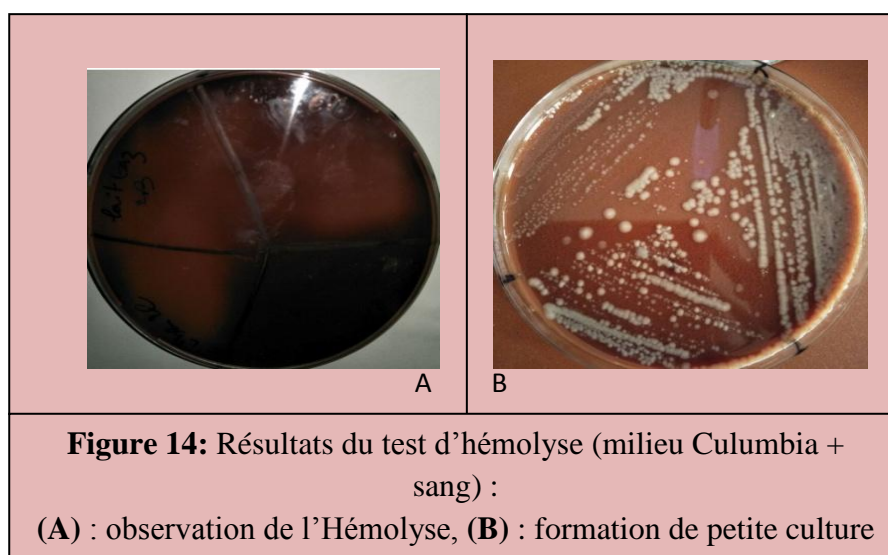
- Virage de l'indicateur de pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu ce qui signifie que la souche est citrate de Simmons (+), Pas de virage de couleur
- pH : il n'y a pas eu alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture ce qui signifie que la souche est Citrate de Simmons (-), (Obréa et al, 1982)

## Résultats et discussion



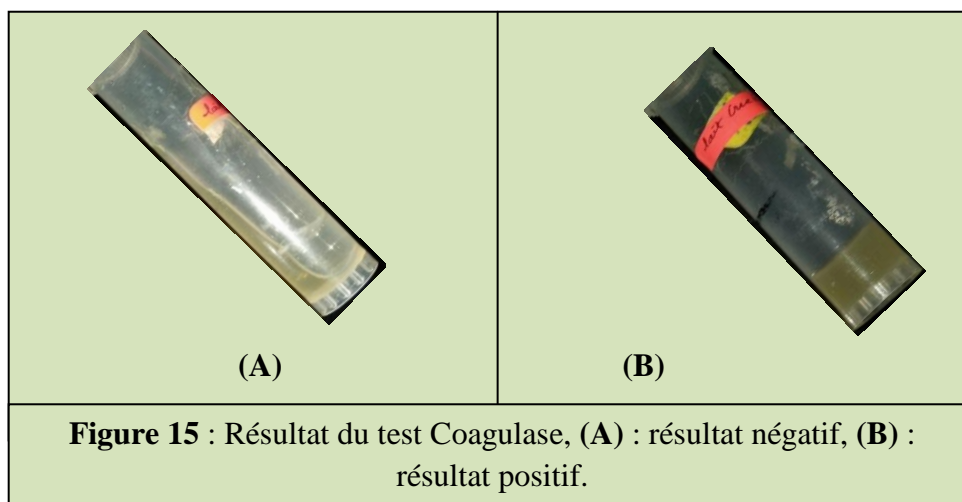
### III.4. Test d'hémolyse

Parmi les 47 isolats 51,06% était Bêta-hémolyse, un taux faible par rapport à celui enregistré en 2002 sur des mammites bovines dans 09 pays européens, et aux états unis d'Amérique, sur 128 isolats de *Staphylococcus aureus*, 97% de ces dernières ont produit une bêta-hémolyse sur gélose Culumbia additionné de 5% du sang de veau. (Larsen, 2002).



### III.5. Test de Coagulase

Un test de coagulase est réalisé pour les 47 souches suspectés d'être des *Staphylococcus aureus*, les résultats obtenus montrent que le taux des staphylocoques à coagulase négative est de 25,53% ce qui fait 12 échantillons négatifs tandis que les 35 échantillons restant étaient positifs (74,47%) (**Figure 15**)



Des études antérieures ont montrées que les premiers germes impliqués dans les infections mammaires des vaches sont les Staphylocoques à coagulase négative (Guérin, 2003).

Une étude portée sur 203 échantillons de lait de vache prélevés à partir de 14 élevages de bovins laitiers dans la région d'Alger a montrée les fréquences suivantes : 67,21% pour Staphylocoques à coagulase négative et 32,79% pour les Staphylocoques à coagulase positive (Hamiroune et al, 2014).

Dans une autre étude menée à Niamey (Niger) en 2005 sur 237 vaches de race locale, la prévalence des mammites subcliniques été de 100 vaches atteintes (44%), en analysant les 100échantillons de lait (67,33%) a révélé une prédominance de Staphylocoques, une fréquence de 22,77% d'isolement de *Staphylococcus* à coagulase négative (Bada-Alambeji et al, 2005).

### IV. Résultats de tests d'identification des isolats

L'ensemble des résultats obtenus pour l'identification de souches retenues comme étant des *Staphylococcus aureus* sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau V** : Résultats de tests d'identification des isolats

## Résultats et discussion

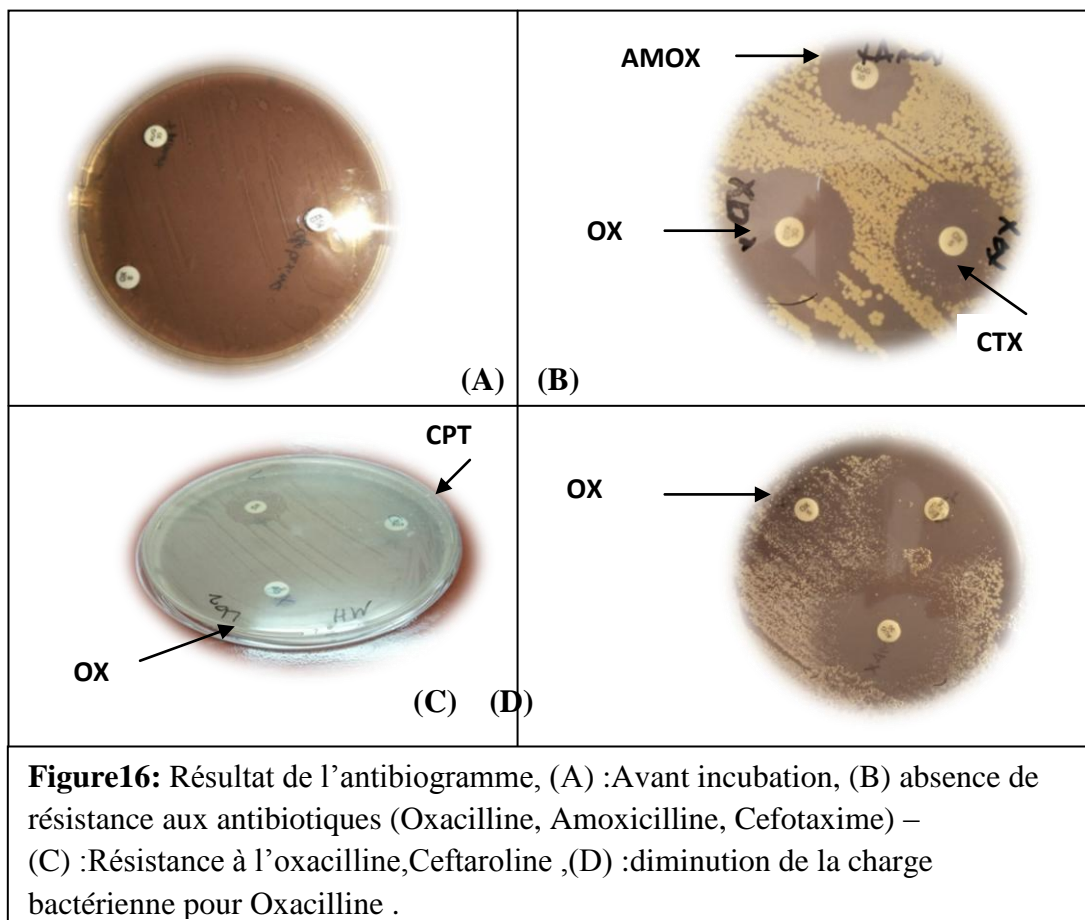
Produit	S	Gr	Cat	CS	F.Gl	F.Lac/ Sac	Gz	H2S	Co	Hm	VP/ RM
Lait De vache mammite use	S1	G+	+	+	-	-	+	-	+	-	+/+
	S2	G+	+	+	-	-	+	+	+	-	+/+
	S3	G+	+	+	-	+	+	-	+	+	+/+
	S4	G+	+	+	-	-	+	+	+	+	+/+
	S5	G+	+	+	-	-	+	+	+	+	+/+
Beurre	S1	G+	+	+	-	-	+	+	+	+	+/+
	S2	G+	+	+	-	+	-	+	+	+	+/+
	S3	G+	+	+	+	-	-	-	+	+	+/+
	S4	G+	+	+	-	-	+	-	+	+	+/+
L B E N	S1	G+	+	-	-	-	+	-	+	+	+/+
	S2	G+	+	-	-	-	+	-	+	+	+/+
	S3	G+	+	-	-	-	+	-	+	+	+/+
	S4	G+	+	-	-	-	+	+	+	+	+/+
	S5	G+	+	+	-	+	+	+	-	+	+/+
	S6	G+	+	+	-	-	+	-	-	+	+/+
	S7	G+	+	+	+	-	+	+	-	+	+/+
L A I T  C R U	S1	G+	+	+	-	-	+	-	-	-	+/+
	S2	G+	+	+	-	-	+	-	-	+	+/+
	S3	G+	+	+	-	+	-	-	-	-	+/+
	S4	G+	+	+	-	-	+	-	-	-	+/+
	S5	G+	+	+	-	+	-	-	-	-	+/+
	S6	G+	+	+	+	-	-	-	-	+	+/+
	S7	G+	+	+	-	-	+	-	-	+	+/+
	S8	G+	+	+	-	-	+	-	-	+	+/+
	S9	G+	+	+	-	-	+	-	+	+	+/+
	S10	G+	+	+	-	-	+	-	-	-	+/+
	S11	G+	+	-	+	-	-	-	+	+	+/+
	S12	G+	+	-	-	-	+	-	+	-	+/+
	S13	G+	+	+	+	+	+	-	+	+	+/+
	S14	G+	+	+	+	+	-	-	+	+	+/+
	S15	G+	+	+	+	-	-	-	+	+	+/+
	S16	G+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
L A I T  C R U	S17	G+	+	+	-	+	+	+	+	-	+/+
	S18	G+	+	-	+	+	+	-	+	-	+/+
	S19	G+	+	+	+	-	+	-	+	+	+/+
	S20	G+	+	+	-	-	+	+	+	-	+/+
	S21	G+	+	+	-	-	-	-	+	+	+/+
	S22	G+	+	-	-	-	-	+	+	-	+/+
	S23	G+	+	+	-	-	+	-	+	-	+/+
	S24	G+	+	+	-	-	-	-	+	+	+/+
	S25	G+	+	-	-	-	+	-	+	-	+/+
	S26	G+	+	+	-	-	+	-	+	-	+/+
	S27	G+	+	+	+	-	+	-	+	-	+/+
	S28	G+	+	-	+	-	-	-	+	+	+/+
	S29	G+	+	-	+	-	-	-	+	+	+/+
	S30	G+	+	-	+	+	+	+	+	+	+/+
	S31	G+	+	+	+	-	+	+	+	-	+/+

Gr : Gram ; Cat : Catalase ; CS : Citrate de Simmons ; Gz : Gaz ; Gl : Glucose ; Lac : Lactose ; Sac : Saccharose ; Co : Coagulase ; Hm : Hémolyse ; S : Souche.

### V. Etude de la sensibilité des souches :

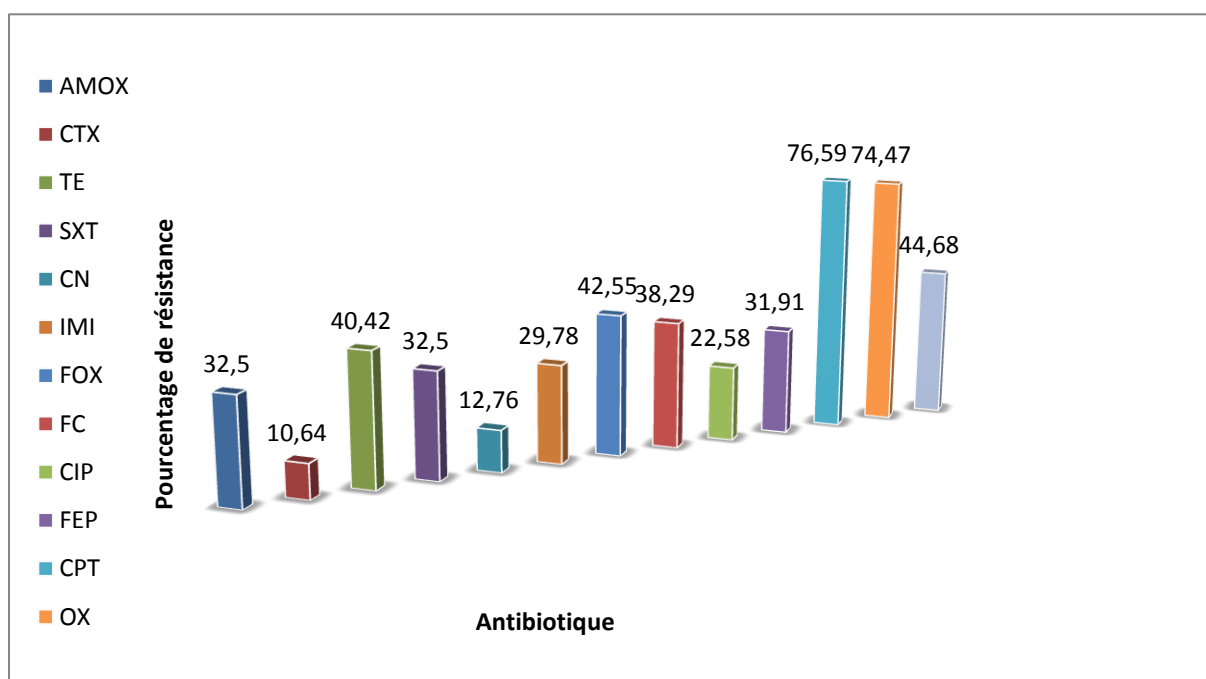
#### V.1. Antibiogramme

Les 47 souches identifiées comme étant des souches de *Staphylococcus aureus* sont mis en contact avec les 13 antibiotiques testés (**Tableau VI**). On a pu déterminer différentes résistances. Après incubation, les disques d'antibiotiques s'entourent d'une zone d'inhibition orbiculaire correspondant à un halo (absence de croissance). On mesure le diamètre des halos en millimètres (mm) du disque translucide autour de l'antibiotique, et on compare les valeurs obtenues avec les valeurs créées par le comité français de l'antibiogramme (**Tableau V**).



Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure suivante :

## Résultats et discussion



**Figure 17:** Résultats de l'antibiogramme pour les souches de *Staphylococcus aureus*

Les souches de *Staphylococcus aureus* présentent une résistance élevée pour les Céphalosporines (Ceftaroline) 76,59% ; et Oxacilline 74,47% , Amoxicilline+Acide clavulanique 44,68% , Céfoxitine 42,55% de la famille bêta lactamine avec les cyclines (Tétracycline) 40,42% , faible vis-à-vis des Aminosides (Gentamicine) 12,76%, les Diaminopyrimidine (Triméthoprim –sulfaméthoxazole) 32,50%, les Fluoroquinolone (Ciprofloxacine) 22,58% , les Fusidanines (Acide fusidique) 38,29% et d'autres antibiotiques de la famille Bêta lactamines tel que Céfotaxime 10,64% ; Céfipime 31,91%.

Effectivement Jean barrot Debreil., 2008 a obtenu une grande résistance de (92% ) au Triméthoprim –sulfaméthoxazole chez les vaches mammiteuse ; néanmoins, dans notre étude seulement (32,50%) des souches ont été résistantes.

Une faible résistance des staphylocoques à la gentamycine a été rapportée par (Bouchot et al 1985) chez les vaches mammiteuse, identique a notre taux qui est de (12,76%). (Bada-Alamedjij et al 2005) ont obtenu un taux de résistance important à l'oxacilline (87,5%) approximativement similaire à notre résultat (74,47%), en l'occurrence, ils ont obtenu une résistance de 100% pour le tétracycline contrairement au pourcentage enregistré dans notre étude (40,42%).

## Résultats et discussion

---

La production de  $\beta$ -lactamase par le test iodométrique a été retrouvée chez 93% des souches testées. Ce qui pourrait expliquer la résistance à certaines  $\beta$ -lactamines comme l'amoxicilline. Selon (daurel et leclercq ,2008), contrairement a notre taux qui est moins important avec un pourcentage de 32.50%.

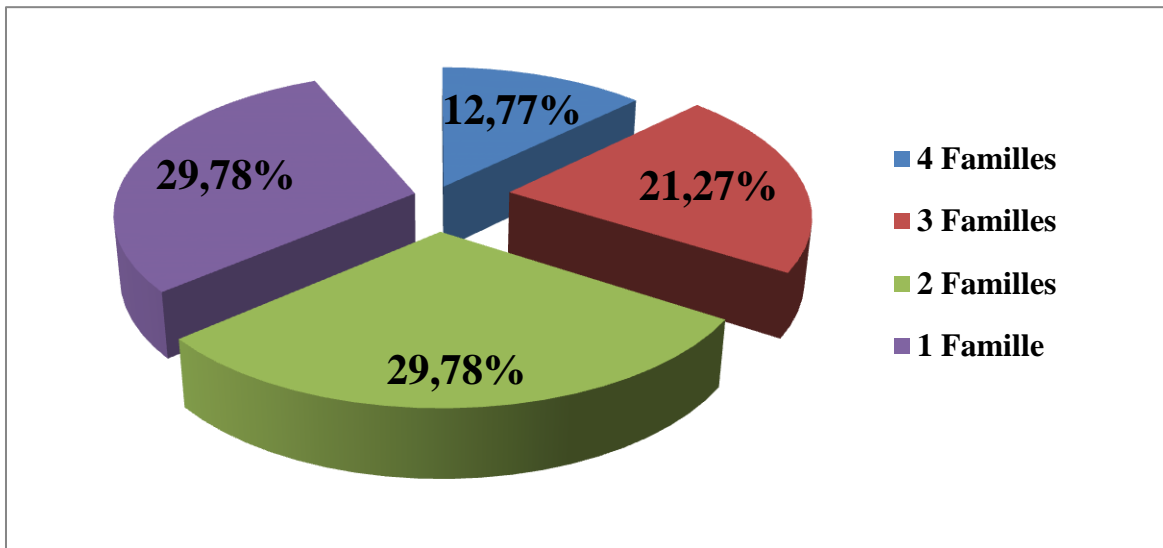
Un taux de résistance modéré aux Fluoroquinolones est obtenu vis-à-vis de Ciprofloxacin (22,58%) contrairement au taux élevé obtenu par (Shittu et *al*, 2006) de 60%.

En ce qui concerne la résistance aux Fusidanes, dans notre étude elle est de 38,29%, ce taux ne concorde pas avec l'étude rapporté par (Ouchnane et *al*, 2010) qui indique un taux de 62,5%.

En effet, ce germe est ainsi assez résistant aux traitements. Les rechutes sont donc fréquentes. Ainsi, la réussite d'un traitement dépend de sa durée, de la réalisation d'un traitement ou non par voie générale, de l'âge de l'animal, des mesures d'hygiène prises pour réaliser le traitement local et du moment du traitement. L'efficacité du traitement en lactation est faible, elle est meilleure au tarissement. Ce faible taux de réussite du traitement est souvent à l'origine d'une réforme des animaux (HANZEN, 2009).

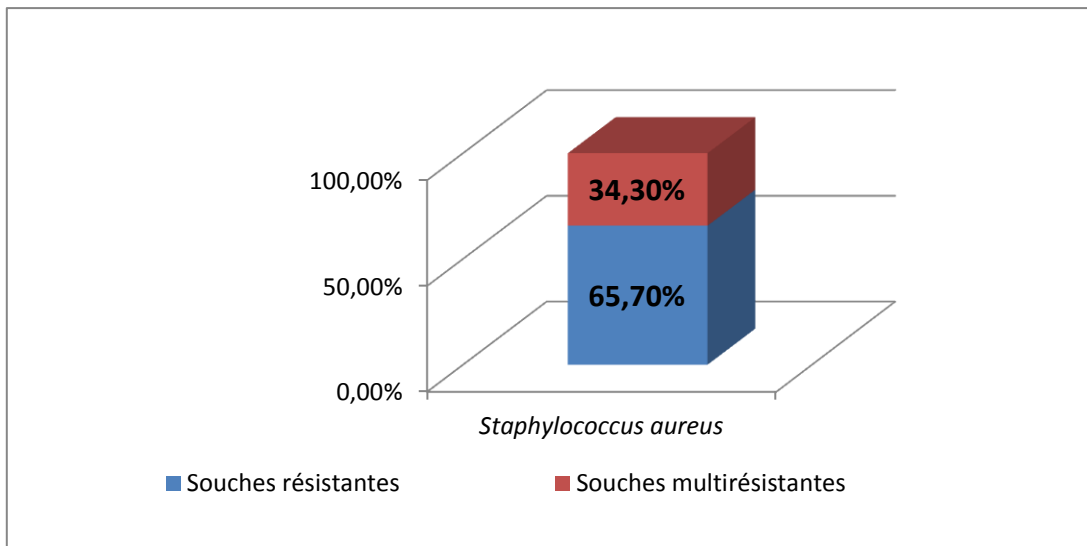
## Résultats et discussion

La résistance des souches par nombre de famille



**Figure18:** Pourcentage de résistance des souches par nombre de famille d'antibiotiques

Parmi les 47 souches identifiées 16 d'entre elles sont multi résistantes (Résistantes à plus de 3 familles d'antibiotiques) (Figure19)



**Figure 19 :** Taux d'isolats multi résistants et résistants

On constate que 34,30% des souches de *Staphylococcus aureus* identifiées sont multi- résistantes à plus de trois familles d'antibiotiques. (Annexe VI).



# *Conclusion*

## Conclusion

---

Dans cette étude un isolement de souches de *Staphylococcus aureus* a été réalisé à partir de 31 échantillons de lait cru, 5 échantillons de lait de mammite et 11 échantillons de certains produits laitiers. Des isolats Gram+ et Catalase + ont été retenus pour une identification phénotypique et biochimique.

Les résultats d'examens macroscopiques obtenus (test de Gram et le test de la catalase) montrent que l'espèce *Staphylococcus aureus* est présente dans la majorité des échantillons testés avec un taux de 72,74% des isolats retenus pour l'étude. Cependant la caractérisation biochimique de l'ensemble des isolats révèle 11 souches appartenant à l'espèce *Staphylococcus aureus*. Néanmoins les résultats du test de la coagulase indiquent que le taux de *Staphylococcus* à coagulase positive est de 74,47%, les résultats du test d'hémolyse ont révélés une production de Bêta-hémolyse de 51,06% des souches. Les résultats de l'antibiogramme ont révélé une prévalence de la résistance de *Staphylococcus* est très élevée vis-à-vis de Ceftaroline 76,59%, Oxacilline 68,08 % et des résistances modérées vis-à-vis d'Amoxicilline +acide Clavulanique 44,68%, Cefoxitine 42,55 % , Tetracycline 40,42%, Acide Fusidique 38,29%, Amoxicilline 32,50%, Trimethroprim sulfamethoxazole 32,50%, Cefepime 31,91%, Imipenem 29,78%, Ciprofloxacine 22,58% et faible résistance vis-à-vis de Gentamycine 12,76% et Cefotaxime 10,64%.

*Staphylococcus aureus* reste une menace pour les élevages, effectivement un taux important de résistance est enregistré, ce qui semble être le reflet d'utilisation inconséquente d'antibiotiques et pour cela il faut une surveillance régulière de l'état de sensibilité du *S.aureus* par un suivi sanitaire des vaches laitières afin de limiter la diffusion des souches résistantes. Les flux prouvés des germes de résistance entre l'environnement, l'homme et l'animal imposent une vision et une approche globale, pouvant se décliner en des mesures stratégique afin de prévenir, d'atténuer, ou même palier cette évolution préjudiciable de la résistance et de la virulence :

- Edification d'une politique stratégique et efficace pour l'amélioration des conditions d'hygiènes.
- Utilisation rationnelle des antibiotiques en respectant la dose et la période de traitement des vaches.

Afin de limiter la présence de *Staphylococcus aureus* dans le lait, lait de mammite et pour les produits laitiers, nous recommandons les conseils suivant :

## Conclusion

---

- Améliorer les conditions hygiéniques de la traite.
- Assurer de meilleures conditions de transport et de conservation des produits laitiers

Ce travail ouvre de nombreuses perspectives :

- Augmenter le nombre des échantillons afin de cibler et couvrir toutes les régions de la wilaya de Bejaia et le territoire national.
- Approfondir, les recherches d'identification phénotypique et biochimique par l'utilisation de la galerie ApiStaph et des techniques moléculaires.
- Etudier les mécanismes de résistance et évaluer l'efficacité des traitements par des antibiotiques.
- Elargir la période d'étude afin d'avoir des résultats représentatifs et significatifs, où sera pris en compte un nombre plus considérable de groupes bactériens.

*Références*

*Bibliographiques*

## Référence bibliographiques

---

### A

**Ababsa A. (2012).** Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques du lait. Mémoire de Magister de Génie Microbiologique .Université de Setif.

**Aouadi A.,** 1991.- Contribution à l'étude des paramètres zootechniques dans les grands élevages bovins du gouvernorat de Béja. Thèse de Doc. Vét., Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet, Tunis, 100 p

### B

**Bada-Alamedjij.R , Kane .Y, Isaa Ibrahim. A, Vias, F.G, et Akakpo A.J. (2005).** Bactérie associés aux mammites subcliniques dans les élevages bovins laitiers urbains et périurbains de Niamey (Niger). Revue Africaines de Santé et de Production Animales 3(2) 120-122

**Becker K, Harmsen D, Mellmann A, Meier C, Schumann P, Peters G Et von Eiff C. (2004).** Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of *Staphylococcus* species. Journal of Clinical Microbiology. 42 Suppl 11 : 4988-4995.

**Bismuth .R .(2000) Leclercq R. *Staphylococcus aureus* et antibiotiques,** in Précis de Bactériologie clinique. Ed ESKA ; P 611-616.

**BOCHOT M.;CATEL J.;CHIROL C.;GANIERE J-P.et LEMENEC M.(1985).-** Diagnostique Bactériologique des infections mammaires des bovins.Rec. Méd. Vét., 116611:: 567-577

**BOURGEOIS C. M. et MESCLE J. F. et ZUCCA J. (1988).** Microbiologie alimentaire. Ed. Technique et documentation-Lavoisier. Paris, p 65-74.

**Brisabois A, Lafarge V, Brouillaud A, De Buysse M L , Collette C, Garin-Bastuji B et Thorel M F. (1997).** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers:situation en France et en Europe. Revue Scientifique et Technique. 16 (1), 452–471p.

**Buisson Y. and Teyssou R. (2002) .** Les toxi-infections alimentaires collectives. Revue française des laboratoires. 348, 61-66.

### C

**Chambers HF, Deleo FR.** Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. Nat Rev Microbiol, 7: 629-41.

**Couderec C, Jolivet S, Thiébaud ACM, Liger C, Remy L, Alvarez AS, Lawrence C, Salomon J, Herrman JL, Guillemot (ASAR) Study Group.(2014).** Fluroquinolone une is a risk factor for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in long-term care facilities:a nested case-case-control study. Clin Infect Dis 59:206-206.

## Référence bibliographiques

---

### D

**Daurel C, Leclercq R.**(2008) l'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. Revue francophone des laboratoires , N°407 : 81-90.

**De Waart J., Mossel D.A.A., Ten Broeke R. and Van de Moosdijk .**(1968) . *Appl. Bact.*, 31, 276

**Dodd FH, Booth J.** (2000). Mastitis and milk production. In the health of dairy cattle. Andrews A..H Edit. London : 213-255.

**Dubost M.**(2006) La nutrition. Montréal : Chenelière Education. p. 253-270.

### F

**FIL.** (1991). Fédération Internationale de Laiterie. The significance of pathogenic microorganisms in raw milk .A10/A11 p14-20,50-67.

**Flandrois J-P.** (1997). Bactériologie médicale. Presse Universitaire de Lyon.

**FREDOT E.,** (2006) Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 25 ,397 .

### G

**Garnier F, Denis F.** (2007). Bactériologie médical : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson. 254p.f

**Giolitti C. and Cantoni C.** (1966) *J. Appl. Bact.*, 29, 395.

**Guérin A.** (2003). – Mise en place d'une démarche de rationalisation du traitement des mammites des vaches laitières. Description des pratiques des éleveurs et des vétérinaires à la mise en place de l'action GTV partenaire en région Rhône-Alpes. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, École nationale vétérinaire de Nantes, 67 pp.

**GUERIN P, GUERIN-FAUBLEE V, BRUYERE P.** (2011-2012) Les mammites de la vache laitière. Polycoché du cours de 4ème année: 133p.

**Guiraud J, Galzy P.**(1980) L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. l'usine nouvelle, La Chapelle-Montligeon,; 37p.

### H

1- **Hamiroune M ; Berber A Boubekour S.**(2014). Contribution à l'étude de la contamination du lait bovin par les staphylocoques dans certaines fermes de la région d'Alger et son impact sur la santé humaine. Revue scientifique et technique 33, 13p

**HASSEN B.S.; MESSADI L. et HASSEN A.**(2003).-Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammites. Ann. Méd.Vét., 114477: 41-47.

**Heleili, N., Ayachi, A., Melizi, M., Kassah, A.L. & Mamache, B.**(2012). 'Prevalence of subclinical bovine mastitis and the *in vitro* sensitivity of bacterial isolates in Batna Governorate, East of Algeria', *Journal of Animal Science Advances* 2, 576–582.

## Référence bibliographiques

---

**Hill LR.** (1981). Taxonomy of the staphylococci. The staphylococci. Aberdeen University Press.

**HENZEN C.** (2009), la pathologie infectieuse de la glande mammaire, étiopathogénie et traitements approche individuelle et de troupeau. Université de Liège

### I

**Jean Barrot** debrail E.F.(2008). Les analyses bactériologiques du lait des infections mammaires bovines applicables au cabinet vétérinaire en pratique courante et leurs interet dans le traitemen des mammites. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (France) (Thèse) 71p.

**Joffin JN,**(2001). Leyral G. Microbiologie technique : 1 'Dictionnaire des techniques'. 3ème Edition, Bordeaux : CRDP d'Aquitaine,320 p.

**Jorgensen J.**(1991). Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and methods for laboratory detection. *Infect Control Hosp Epidemiol*;12:14–219.

### K

**Kérouanton, A.,**Hennekinne J.A., Letertre C.,Petit L . Chesneau O., Brisabois A., De Buyser M.L. (2007). Characterization of *staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. *International journal of food microbiology* 115, 369-375.

**KONTE M; NDIAYE A .M .S et MBENGUE A.B.**(1988).- Note sur les espèces bactériennes isolées de mammites bovines au Sénégal.*Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, 4411(3): 253-255

### L

**LAMBIN, S.. GERMAN, A.**(1961) : Précis des microbiologie, Paris. ED : Masson

63 p.

**Lamprell, H.** (2003).production des entérotoxines dans les fromages en fonction de la diversité phenotypique et génétiques des souches de *staphylococcus aureus*.thèse de Doctorat en sciences des aliments université de bourgogne( France ), 79p.

**Lancette, G.A.,** and R.W. Bennett.( 2001). *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. In: Downes, F.P., and K. Ito (ed.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.

**Larsen .H.D,** Jensen.N.E., (2002). Géographical variation in the presence of genes encoding superantigenic exotoxins and  $\beta$ -hemolysin among *Staphylococcus aureus* isolated from bovin e mastitis in Europe and USA.*Veterinary Microbiology* 85, 61-67

**Le Loir et Gantier.** (2009). *Staphylococcus aureus*. Lavoisier. Paris. 277p.

## Référence bibliographiques

---

**Leclercq, R.** Résistance des staphylocoques aux antibiotiques Ann Fr Anesth Réanim 2002 ; 21 : 375-83. 2002 Éditionsscientifiquesetmédicales Elsevier SAS.

**LONGO F ; BEGUIN J. C; CONSALVI P.J. et DELTOR J.C.**(1994).-Quelques données épidémiologiques sur les mammitessubcliniques de la vache laitière. Revue.Méd.Vét., 114455(1) : 43-47.

### M

**MacFaddin JF.**(2000) Catalase-Peroxidase Tests. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. p. 78-97.

**MacKinnon MM,AllenKD.**( 2000).Long-term MRS carriage in hospital patients J Hosp Infect 46 :216-221.

**Mazyoyer M .**(2007).Larousse agricole Edition Larousse paris France p115-116-374-375-405

**Mee-Marquet N.V., Blanchard M., Domelier A.S., Quentin R.**(2004). Survey Study Group of the Relais d' Hygiène du Centre : Virulence and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from various origins. Pathologie Biologie; 52: 579–583.

**MICHAEL M. JOHN M. THOMAS B.** (2007). Biologie des microorganismes. 11<sup>ème</sup> Ed. Pearson éducation France. Paris. 379 p.

**MICHEL F.** (2005). Bactériologie alimentaire. 2<sup>ème</sup> Ed. Economica. Paris. P 45-47, 219.

### O

**Obré A, Buttaux R.** (1982). les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Ed Doin.482p

**Ouchenane Z, F. Smati, J.-M. Rolain, & D . Raout.** (2010). Molecular characterization of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* isolates in Algeria.

### P

**Prescott L.M, Harley J.P, Klein D.**(2010). Microbiologie. 2<sup>ème</sup> Edition Française. De Boeck Université .

### R



## Référence bibliographiques

---

**Rainard P, Poutrel B.** (1993). Protection de la glande mammaire. In : Biologie de la lactation. Ed. INSERM-INRA : 415-429.

**Rasha A. Hashem, Aymen S. Yassin, Hamdallah H. Zedan, Magdy A. Amin** (2013) Fluoroquinolone resistant mechanisms in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Cairo, Egypt *J Infect Dev Ctries* 2013; 7(11):796-803.

**REMY D .**(2010). Les mammites. Paris: France Agricole. 259 p.



**Saini, V., McClure, J. T., D, leger, S., D, leger, S., dufour, A., Sheldon, G., scholl, D., T. et Barkema, H.W.** (2012). Antimicrobial use on Canadian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 95 : 1209-1221.

**Schukken Y.H.,** (1990). Epidemiological studies on clinical mastitis in dairy herds with a low bulk somatic cell count. Thèse Doct Univ, Utrecht, 158p.

Sciences de la Nature et de la Vie, Setif, 63p.

**Seegers H, Menard J.L, Fourichon C.**( 1997). Mammites en élevage bovin laitier : importance actuelle, épidémiologie et plans de prévention. *Ren. Rec. Ruminants*, 4 : 233-242.

**Serieys F.** (1995). Le point sur les mammites des vaches laitières. ITEB, Paris : 65 p.

**Shallcross LJ, Fragaszy E, Johnson AM, Hayward AC.** the role of the panton-valentine leucocidin toxin in staphylococcal disease : a systematic review and meta analysis. *Lancet Infect Dis*, 2013 ;13 :43-54.

**Shittu AO, Lin J .**(2006). Antimicrobial susceptibility pattern and characterization of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in kwaZulu-natal province, south Africa. *BMC infect Dis* ;6 :125. Doi : 10.1186 /1471623346125.

**Skov R, Larsen AR, Kearns A, Holmes M, Teale C, Edwards G, Hill R.**(2014) Phenotypic detection of mecC-MRSA: ceftiofur is more reliable than oxacillin. *J Antimicrob Chemother*;69 (1):133-5.

**SOMMERHAUSER J,**(2003). The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control programme.pdf. *Veterinary Microbiology*;96:91- 102.

**Sulkin, E.S., Willet, J.C.** (1940). A Triple Sugar Ferrous Sulfate Medium for use in Identification of Enteric Organisms. *J. Lab. Clin. Med.*, 25: 649-653.

**Sutra, L., Federighi, M., Jouve, J.L.**(1998). Manuel de bactériologie alimentaire. Ed. Polytechnica(Paris), 308p.



**Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA,** .(2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*.5(12):751–62.

**Sites web :**

## Référence bibliographiques

---

[www.eucast.org](http://www.eucast.org). European committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Recommendations de 2017.

*Annexe*

## Annexe

### Annexe

#### Annexe 1: milieux de culture

**Tableau I : Giolitti cantoni (HIMEDIA)**

Bouillon d'enrichissement anaérobie pour *Staphylococcus aureus*.

Composition	Valeur
Tryptone	10.0 g
Extrait de viande de bœuf	5.0 g
Extrait de levure	5.0 g
Chlorure de lithium	5.0 g
Mannitol	20.0g
Chlorure de sodium	5.0 g
Glycocolle	1.2 g
Pyruvate de sodium	3.0 g
pH 6,9 ± 0,2	

500grammes permettent de préparer 9,2 litres de milieu.

**Tableau II : Baird Parker (HIMEDIA)**

La gélose Baird-Parker est recommandée pour la recherche et la numération des staphylocoques coagulas positive.

Composition	Valeur
Peptone	10.0 g
Extrait de viande de bœuf	4.0 g
Extrait de levure	2.0 g
Pyruvate de sodium	10.0 g
Glycocolle	12.0g
Chlorure de lithium	5.0g
Agar-agar	20.0g
A ajouter en conditions stériles juste avant l'ensemencement	
Émulsion de jaune d'œuf ( <i>stérile</i> )	50.0 ml

## Annexe

Tellurite de potassium ( <i>stérile</i> )	0.1 g
PH = 7.2	

**Tableau III : Bouillon nutritive (CONDA)**

Utilisé pour la conservation des souches

Composition	Quantité
Pepton	10.0g
Extrait de viande	5g
PH = 6.8	

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min

**Tableau IV : Gélose Mueller-Hinton (CONDA)**

La gélose Mueller-Hinton est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et sulfamides.

Composition	Valeur
infusion de viande de bœuf	300.0 ml
peptone de caséine	17.5 g
amidon de maïs	1.5 g
Agar	17.0 g
PH = 7.4	

**Tableau V : Milieu Chapman (HIMEDIA)**

Composition	Quantité
Extrait de viande (bovin ou porcin)	1g
Peptone de caséine et de viande (bovine et porcine)	10g

## Annexe

Chlorure de sodium	75g
Mannitol	10g
Agar	15g
Rouge de phénol	0.025g
PH = 7.6	

Préparation : 111g par litre d'eau distillée stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

### Tableau VI : Bouillon cœur-cerveille (BHIB) (CONDA)

Convient aussi pour la mise en évidence de la staphylocoagulase.

Composition	Valeur
Infusion de cervelle de veau	12.5 g
Infusion de cœur de bœuf	50.g
Peptone	10.0g
Glucose	2.0g
Chlorure de sodium	2.0g
Phosphatase di sodium	5g
PH = 7.4	

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min

### Tableau VII : Gélose TSI (CONDA)

Milieu pour la différenciation des entérobactéries basées sur la production de sulfure d'hydrogène et la fermentation du lactose, du saccharose et du D-glucose.

Composition	Valeur
Mélange de peptones	18.0 g /l
Extrait de levure	3.0 g/l

## Annexe

Extrait de viande	4.0 g/l
Lactose	10.0 g/l
Saccharose	10.0 g/l
D-glucose	1.0 g/l
Chlorure de sodium	5.0 g/l
Citrate d'ammonium ferrique	0.3 g/l
Thiosulfate de sodium	0.3 g/l
Rouge de phénol	0.025 g/l
Agar	14.0 g/l
Ph : 7.4	

**Tableau VIII : Citrate de Simmons (HIMEDIA)**

Composition	Valeur
Citrate de sodium	1.0 g
Bleu de bromothymol	0.08 g
Chlorure de sodium	5.0 g
Sulfate de magnésium	0.2g
Hydrogénophosphate de potassium	1.0 g
Dihydrogénophosphate de potassium	1.0 g
Agar	15.0 g
Ph = 6.9	

**Tableau IV : milieu Columbia (CONDA)**

Composition	Valeur
Poly peptones	17.0 g
Peptone pancréatique de cœur	3.0 g/l
Amidon de maïs	1.0 g/l
Chlorure de sodium	5.0 g/l

## Annexe

Extrait de levure	3.0 g/l
Agar	13.5 g/l
Ph = 7.3	

### Tableau X : milieu Clark et Lubs

Milieu recommandé pour les réactions au RM et de VP permettant de différencier les entérobactéries.

Composition	Valeur
Peptone	5.0 g
Glucose	5.0 g
Tampon phosphate	5.0 g
pH 7,5 ± 0,2	

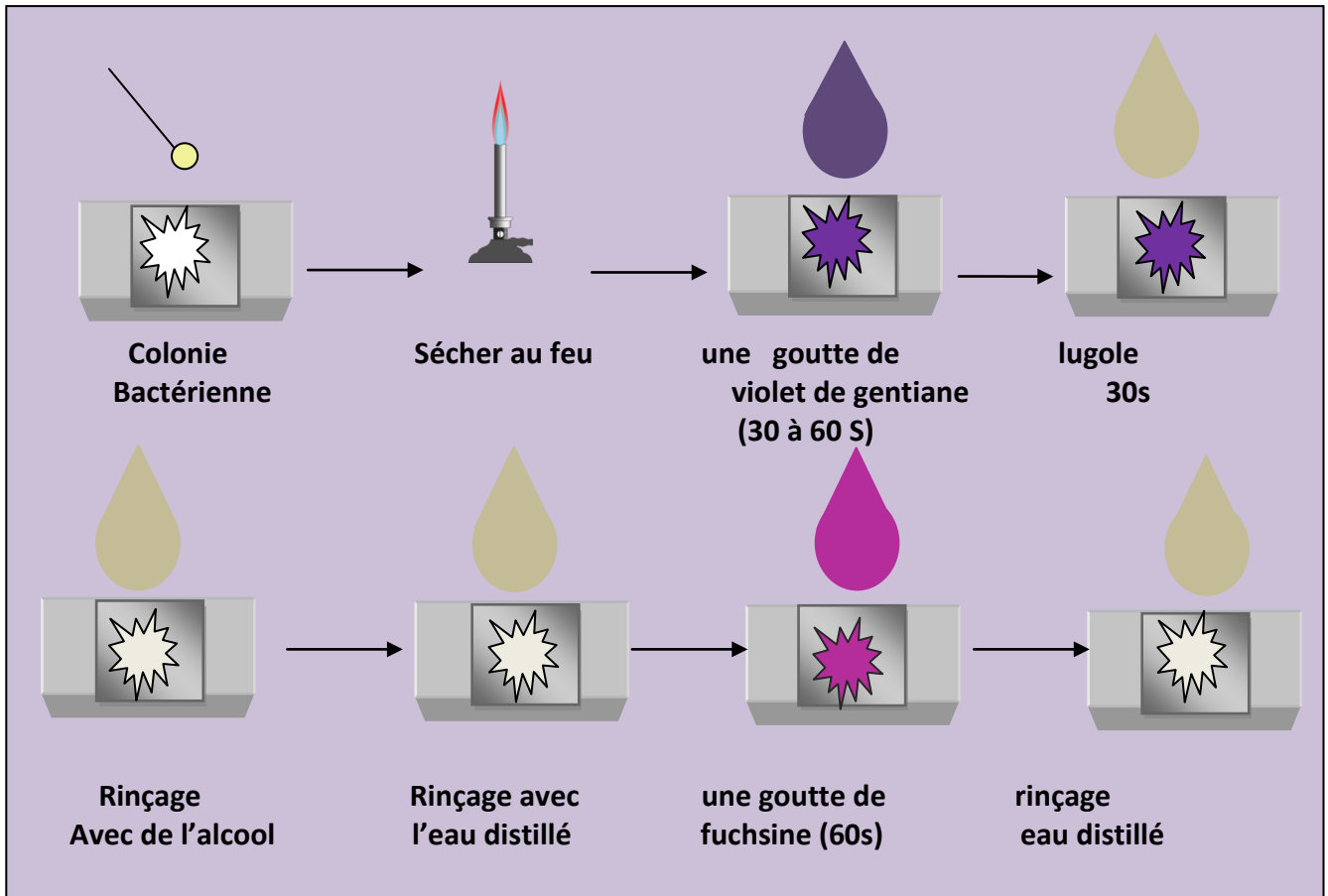
### Annexe 2 :

#### Tableau I : Réactifs de la coloration de Gram Violet de gentiane

Composition	Valeur
Phénol	2.0 g
Violet de gentiane	1.0 g
Ethanol à 90°	10 ml
Eau distillée	100 ml
Lugole: Iodure de potassium	2.0 g
Iode métalloïde	1.0 g
Eau distillée	300 ml
Alcool	
Fuchsine de ziehl: Fuchsine basique	1.0 g
Phénol	10 ml
Ethanol à 90°	10 ml
Eau distillée	100 ml



**Coloration de Gram :**



**Figure 01 : Coloration de Gram**

## Annexe

### Annexe 3 :

**Tableau I :** Classification des germes responsables de mammites

(GUERIN *et al*, 2012)

	Genres	Espèces
<b>Germes pathogènes majeurs</b>	Streptocoques	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i> <i>Streptococcus uberis</i> <i>Streptococcus bovis</i> Entérocoques ( <i>Enterococcus faecalis</i> et <i>enterococcus faecium</i> )
	<b>Staphylocoques (coagulase +)</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus intermedius</i> <i>Staphylococcus hyicus</i>
	Entérobactéries	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Serratia marcescens</i>
	Anaérobies	<i>Trueperella pyogenes</i> (anciennement <i>Arcanobacterium pyogenes</i> , <i>Actinomyces pyogenes</i> , <i>Corynebacterium pyogenes</i> ) <i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i>
	Pseudomonas	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Mycoplasmes	<i>Mycoplasma bovis</i>
	Autres	<i>Mycobacterium bovis</i> <i>Nocardia asteroides</i> <i>Candida albicans</i> Algues ( <i>Prototheca zoopfi</i> )
<b>Germes pathogènes</b>	Staphylocoques à coagulase -	<i>Staphylococcus xylosus</i>

## Annexe

<b>mineurs</b>		<i>Staphylococcus hyicus</i> <i>Staphylococcus chromogenes</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Staphylococcus cohnii</i> <i>Staphylococcus capitis</i> <i>Staphylococcus warneri</i> <i>Staphylococcus haemolyticus</i>
	Microcoques et macrocoques	<i>Micrococcus caseolyticus</i>
	Corynébactéries	<i>Corynebacterium bovis</i>

## Annexe

**Annexe 4:** Profils de résistances des souches de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des antibiotiques

	S	AMX	OX	CTX	TE	SXT	CN	AUG	IMI	FOX	FC	CIP	FEP	CPT
<b>Lait De Vache Mammi teuse</b>	<b>S1</b>	<b>31(S)</b>	<b>22(R)</b>	<b>18(R)</b>	<b>18(R)</b>	<b>27(S)</b>	<b>14(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>27(S)</b>	<b>22(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>19(R)</b>
	<b>S2</b>	<b>21(S)</b>	<b>R</b>	<b>26(S)</b>	<b>20(R)</b>	<b>29(S)</b>	<b>20(S)</b>	<b>23(R)</b>	<b>10(R)</b>	<b>36(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>34(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>22(R)</b>
	<b>S3</b>	<b>2(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>36(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>21(R)</b>	<b>20(S)</b>	<b>14(R)</b>	<b>31(S)</b>	<b>19(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>31(S)</b>
	<b>S4</b>	<b>26(S)</b>	<b>17(R)</b>	<b>12(R)</b>	<b>20(R)</b>	<b>3.4(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>20(R)</b>	<b>22(S)</b>	<b>16(R)</b>	<b>36(S)</b>	<b>33(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>30(S)</b>
	<b>S5</b>	<b>30(S)</b>	<b>16(R)</b>	<b>18(R)</b>	<b>12(R)</b>	<b>30(S)</b>	<b>39(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>20(R)</b>	<b>20(R)</b>	<b>18(R)</b>	<b>20(R)</b>	<b>18(R)</b>	<b>22(R)</b>
<b>B E U R R E</b>	<b>S1</b>	<b>30(S)</b>	<b>R</b>	<b>30(S)</b>	<b>27(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>20(S)</b>	<b>24(R)</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>24(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>15(R)</b>	<b>13(R)</b>
	<b>S2</b>	<b>20(S)</b>	<b>R</b>	<b>42(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>27(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>35(S)</b>	<b>R</b>	<b>45(S)</b>	<b>14(R)</b>	<b>31(S)</b>
	<b>S3</b>	<b>35(S)</b>	<b>R</b>	<b>29(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>31(S)</b>	<b>17(R)</b>	<b>24(R)</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>20(R)</b>	<b>25(S)</b>	<b>05(R)</b>	<b>09(R)</b>
	<b>S4</b>	<b>24(S)</b>	<b>R</b>	<b>47(S)</b>	<b>34(S)</b>	<b>33(S)</b>	<b>19(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>32(S)</b>	<b>R</b>	<b>29(S)</b>	<b>45(S)</b>	<b>31(S)</b>
<b>L B E N</b>	<b>S1</b>	<b>20(S)</b>	<b>R</b>	<b>32(S)</b>	<b>22(S)</b>	<b>17(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>24(R)</b>	<b>20(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>20(R)</b>	<b>40(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>10(R)</b>
	<b>S2</b>	<b>22(S)</b>	<b>R</b>	<b>31(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>33(S)</b>	<b>27(S)</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>08(R)</b>	<b>27(S)</b>	<b>40(S)</b>	<b>11(R)</b>
	<b>S3</b>	<b>33(S)</b>	<b>R</b>	<b>28(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>31(S)</b>	<b>17(R)</b>	<b>25(S)</b>	<b>R</b>	<b>07(R)</b>	<b>25(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>14(R)</b>	<b>12(R)</b>
	<b>S4</b>	<b>35(S)</b>	<b>18(R)</b>	<b>26(S)</b>	<b>18(R)</b>	<b>39(S)</b>	<b>4(S)</b>	<b>21(R)</b>	<b>12(R)</b>	<b>37(S)</b>	<b>19(R)</b>	<b>27(S)</b>	<b>14(R)</b>	<b>13(R)</b>
	<b>S5</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>30(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>20(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>45(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>34(S)</b>	<b>2.9(S)</b>	<b>36(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>08(R)</b>
	<b>S6</b>	<b>30(S)</b>	<b>18(R)</b>	<b>34(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>37(S)</b>	<b>40(S)</b>	<b>R</b>	<b>35(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>17(R)</b>	<b>18(R)</b>
	<b>S7</b>	<b>22(S)</b>	<b>R</b>	<b>30(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>20(S)</b>	<b>26(S)</b>	<b>22(R)</b>	<b>50(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>24(S)</b>	<b>14(R)</b>	<b>12(R)</b>
<b>L</b>	<b>S1</b>	<b>35(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>20(S)</b>	<b>20(S)</b>	<b>15(R)</b>	<b>10(R)</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>30(S)</b>	<b>20(S)</b>	<b>R</b>
	<b>S2</b>	<b>23(S)</b>	<b>25(R)</b>	<b>35(S)</b>	<b>20(R)</b>	<b>20(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>23(S)</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>20(R)</b>	<b>30(S)</b>	<b>R</b>

## Annexe

<b>A I T</b>	<b>S3</b>	<b>20(S)</b>	<b>26(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>16(R)</b>	<b>17(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>12(R)</b>	<b>20(R)</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>40(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>R</b>	
	<b>S4</b>	<b>23(S)</b>	<b>27(S)</b>	<b>31(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>20(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>24(S)</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>40(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>R</b>	
	<b>S5</b>	<b>21(S)</b>	<b>20(R)</b>	<b>32(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>18(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>17(R)</b>	<b>26(R)</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>43(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>10(R)</b>	
	<b>S6</b>	<b>39(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>38(S)</b>	<b>21(R)</b>	<b>20(S)</b>	<b>24(S)</b>	<b>22(R)</b>	<b>22(S)</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>36(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>R</b>	
<b>C R U E</b>	<b>S7</b>	<b>31(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>36(S)</b>	<b>38(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>40(S)</b>	<b>40(S)</b>	<b>38(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>30(S)</b>	
	<b>S8</b>	<b>34(S)</b>	<b>26(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>20(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>20(R)</b>	<b>15(R)</b>	<b>30(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>20(R)</b>	
	<b>S9</b>	<b>41(S)</b>	<b>33(S)</b>	<b>40(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>20(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>60(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>26(S)</b>	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>10(R)</b>	<b>R</b>	
	<b>S10</b>	<b>38(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>39(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>18(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>38(S)</b>	<b>31(S)</b>	<b>20(R)</b>	<b>26(S)</b>	<b>22(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>R</b>	
	<b>S11</b>	<b>35(S)</b>	<b>19(R)</b>	<b>36(S)</b>	<b>31(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>42(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>13(R)</b>	<b>20(R)</b>	
	<b>S12</b>	<b>18(R)</b>	<b>18(R)</b>	<b>30(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>26(S)</b>	<b>33(S)</b>	<b>24(R)</b>	<b>41(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>20(R)</b>	<b>30(S)</b>	<b>20(R)</b>	
	<b>S13</b>	<b>35(S)</b>	<b>23(R)</b>	<b>34(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>R</b>	<b>28(S)</b>	<b>34(S)</b>	<b>42(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>30(S)</b>	
	<b>S14</b>	<b>37(S)</b>	<b>25(R)</b>	<b>35(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>20(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>41(S)</b>	<b>46(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>27(S)</b>	
	<b>S15</b>	<b>23(S)</b>	<b>10</b>	<b>30(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>R</b>	<b>25(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>47(S)</b>	<b>38(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>15(R)</b>	
	<b>L A I T  C R U E</b>	<b>S16</b>	<b>23(S)</b>	<b>R</b>	<b>25(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>14(R)</b>	<b>27(S)</b>	<b>24(S)</b>	<b>R</b>	<b>20(R)</b>	<b>25(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>15(R)</b>
		<b>S17</b>	<b>17(R)</b>	<b>20(R)</b>	<b>30(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>36(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>36(S)</b>	<b>49(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>20(S)</b>
<b>S18</b>		<b>35(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>31(S)</b>	<b>22(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>40(S)</b>	<b>47(S)</b>	<b>34(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>39(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>25(S)</b>	
<b>S19</b>		<b>17(R)</b>	<b>22(R)</b>	<b>20(R)</b>	<b>09(R)</b>	<b>R</b>	<b>28(S)</b>	<b>24(R)</b>	<b>44(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>13(R)</b>	<b>24(S)</b>	<b>18(R)</b>	
<b>S20</b>		<b>22(S)</b>	<b>22(R)</b>	<b>30(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>26(S)</b>	<b>37(S)</b>	<b>37(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>20(R)</b>	
<b>S21</b>		<b>18(R)</b>	<b>25(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>26(S)</b>	<b>22(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>43(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>18(R)</b>	<b>31(S)</b>	<b>30(S)</b>	
<b>S22</b>		<b>18(R)</b>	<b>24(R)</b>	<b>30(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>R</b>	<b>29(S)</b>	<b>24(R)</b>	<b>18(R)</b>	<b>20(R)</b>	<b>12(R)</b>	<b>30(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>20(R)</b>	
<b>S23</b>		<b>31(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>34(S)</b>	<b>26(S)</b>	<b>21(R)</b>	<b>30(S)</b>	<b>26(S)</b>	<b>15(R)</b>	<b>14(R)</b>	
<b>S24</b>		<b>17(R)</b>	<b>21(R)</b>	<b>17(R)</b>	<b>10(R)</b>	<b>05(R)</b>	<b>25(S)</b>	<b>24(R)</b>	<b>20(R)</b>	<b>25(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>34(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>18(R)</b>	
<b>S25</b>		<b>18(R)</b>	<b>R</b>	<b>29(S)</b>	<b>09(R)</b>	<b>R</b>	<b>09(R)</b>	<b>25(S)</b>	<b>42(S)</b>	<b>36(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>17(R)</b>	<b>28(S)</b>	<b>15(R)</b>	

## Annexe

---

	<b>S26</b>	<b>24(S)</b>	<b>25(R)</b>	<b>23(S)</b>	<b>09(R)</b>	<b>R</b>	<b>26(S)</b>	<b>20(R)</b>	<b>43(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>15(R)</b>
	<b>S27</b>	<b>30(S)</b>	<b>15(R)</b>	<b>34(S)</b>	<b>10(R)</b>	<b>30(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>42(S)</b>	<b>47(S)</b>	<b>33(S)</b>	<b>20(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>20(R)</b>
	<b>S28</b>	<b>32(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>34(S)</b>	<b>08(R)</b>	<b>24(S)</b>	<b>24(S)</b>	<b>36(S)</b>	<b>45(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>39(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>10(R)</b>
	<b>S29</b>	<b>35(S)</b>	<b>20(R)</b>	<b>37(S)</b>	<b>25(S)</b>	<b>19(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>24(R)</b>	<b>28(S)</b>	<b>R</b>	<b>25(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>25(R)</b>
	<b>S30</b>	<b>34(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>34(S)</b>	<b>27(S)</b>	<b>24(S)</b>	<b>29(S)</b>	<b>40(S)</b>	<b>54(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>27(S)</b>	<b>40(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>29(S)</b>
	<b>S31</b>	<b>36(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>39(S)</b>	<b>30(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>20(R)</b>	<b>50(S)</b>	<b>34(S)</b>	<b>28(S)</b>	<b>35(S)</b>	<b>32(S)</b>	<b>25(R)</b>

## Annexe

### Annexe 5 : Répartition des résistances des souches par familles

Nombre de famille	Souches	Famille d'antibiotique
<b>4</b>	Lait de mammite(S1)	Betalactamine, Fusidanine, Aminosite, Tétracycline
	Lait de mammite(S5) Lait cru(S2)	Béta-lactamine, Quinolones, Fusidanine, Tétracycline
	Lait cru(S19)	Quinolone, Béta-lactamine, Sulfamidé, Tétracycline
	Lait cru (S22)	, Fusidanine, Béta-lactamine, Sulfamidé, Tétracycline
	Lait cru(S25)	Aminosite, Béta-lactamine, Sulfamidé, Tétracycline
<b>3</b>	Beurre(S3)	Béta-lactamine, Fusidanine, Aminosite
	L'ben(S4), Lait cru(S4,S6)	Beta-lactamine, Fusidanine, Tétracycline
	Lait cru (S12,S24,S26)	Béta-lactamine, Aminosite, Tétracycline
	Lait de mammite(S3)	Béta-lactamine, Quinolone, Aminosite
	Lait cru(S13)	Tétracycline, Sulfamidé, Béta-lactamine
	Lait cru (S16)	Béta-lactamine, Fusidanine, Aminosite
<b>2</b>	Lait de mammite(S2,S4), Lait cru (S15,S17,S27)	Béta-lactamine, Tétracycline
	L'ben(S1, S2), Lait cru(S1,S5,S8,S9), Beurre(S2)	Fusidanine, Béta-lactamine
	L'ben(S3)	Aminosite, Béta-lactamine
	L'ben (S4)	Béta-lactamine, Sulfamidé,
	Lait cru (S21)	Quinolone, Beta-lactamine
<b>1</b>	Beurre(S1,S4), L'ben(S5,S6,S7), Lait cru (S10,S11,S14,S20,S23 ,S29,S31)	Béta-lactamine,
	Lait cru(S28)	Tétracycline

# *Résumé*



## Résumé

L'identification et l'antibiogramme des souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir du lait, lait de mammite et de certains produits laitiers ont été réalisées pour évaluer la fréquence d'apparition de la résistance et la sensibilité *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des antibiotiques. Premièrement, 58 souches ont été soumises à plusieurs tests pour isoler le germe *Staphylococcus aureus*. 47 souches étaient positives après enrichissement. Sur les milieux de culture utilisés, la croissance des souches bactériennes des 47 échantillons a été observée. Au milieu du baird de Parker, les colonies étaient noires entourées d'un halo clair. Deuxièmement, elles ont été soumises à des tests d'identification biochimique pour confirmer que ces souches appartiennent à l'espèce *Staphylococcus aureus*, et à un test d'antibiogramme avec une gamme d'antibiotiques pour déterminer la résistance et la sensibilité de nos souches aux antibiotiques, les résultats de l'identification et l'antibiogramme ont révélé la présence de *S. aureus* avec un taux de (74,47% des souches restantes (25,53%) étaient des staphylocoques à coagulase négative, et pour le test de sensibilité, il a été remarqué que (76,59%) des échantillons étaient résistants à la Ceftaroline, (68,08%) à l'Oxacilline, à l'Amoxicilline + Clavulanis (44,68%), à la Céfoxitine (42,42%), à la Tétracycline (40,42%), à la Gentamicine (12,76%) et au Triméthopim-sulfaméthaxazole (32,50%), la ciprofloxacine (22,58%), l'acide fusidique (38,29%), la céfipime (31,91%) Enfin (10,64%) des souches résistants à la céfétaxime. Les souches de *Staphylococcus aureus* isolées résistent toutes à la plupart des antibiotiques testés.

**Mots clés :** Lait, lait mammiteux, produits laitiers, *Staphylococcus aureus*, isolement, identification, antibiogramme.

## Abstract

Identification and antibiogram of strains of *Staphylococcus aureus* isolated from mastitis milk and certain dairy products were performed to evaluate the frequency of occurrence of resistance and the sensitivity of antibiotic staphylococcus aureus by experimental tests. First, 58 samples were submitted to several tests to isolate *Staphylococcus aureus*, 47 samples were positive after enrichment. On the culture media used, the growth of the bacterial strains of the 47 samples were observed. In the middle of the parker baird the colonies were black surrounded by a clear halo, Second, they were subjected to biochemical identification tests to confirm that these strains belong to the species *Staphylococcus aureus* and to an antibiogram test with a range of antibiotics to determine resistance and sensitivity of our strains to antibiotics, the results of the identification and antibiogram revealed the presence of *S. aureus* with a rate of (74.47% of the remaining strains (25.53%) were coagulase-negative staphylococci, and for the susceptibility test, it has been noticed that (76.59%) of samples were resistant to Ceftaroline, (68.08%) Oxacillin, Amoxicillin + Clavulanis acid (44.68%), Cefoxitin (42.42%), Tetracycline (40.42%), Gentamicin (12.76%), Trimethopim-sulfamethaxazole (32.50%), Ciprofloxacin (22.58%), Fusidic acid (38.29%), cefipime (31.91%) Finally (10.64%) of strains that are resistant to Cefetaxime. The strains of *staphylococcus aureus* isolated resist all to the most of the antibiotics tested .

**keys words :** Milk, mastitis milk, *Staphylococcus aureus*, identification, isolation, susceptibility.