

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée
Domaine : Biologie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Thème

**Prévalence et antibiorésistance des souches
d'*Escherichia coli* isolées de lait cru dans la région
d'Ain Témouchent**

Présenté Par :

- 1) Mlle BENDJEBBARA Marwa
- 2) Mlle BENMOUMENE Nacima Merroua
- 3) Mlle BENIDIRI Celina Louiza

Devant le jury composé de :

Dr. CHERIF Nadjib	M C A UAT.B.B (Ain Témouchent)	Président
Dr. LACHACHI Meryem	M C B UAT.B.B (Ain Témouchent)	Examinateur
Dr. BOUAMRA Mohammed	M C A UAT.B.B (Ain Témouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2023/2024



Remerciements

Nous tenons dans un premier temps à remercier Dieu le tout puissant qui nous a guidé pour en arriver jusque-là, et nous a donné la force et la constance d'accomplir ce modeste travail.

Nous sommes reconnaissantes à l'université de d'Ain-Temouchent pour nous voir offert la possibilité de mener à bien ce projet, et en particulièrement le département de science de la nature et de vie.

*Nous aimerions adresser un remerciement particulier et une profonde gratitude à notre encadrant exceptionnel **Dr. BOUAMRA Mohammed** pour son accompagnement tout au long de la rédaction de notre mémoire, pour sa patience, sa disponibilité et surtout pour ses judicieux conseils.*

*Nous tenons à remercier les membres du jury, **Dr. CHERIF Nadjib** le président du jury, et **Dr. LACHACHI Meryem** l'examinatrice du jury, pour avoir accepté de juger ce mémoire. Nous sommes honorées de pouvoir leur soumettre nos travaux et nous sommes reconnaissantes pour leurs remarques constructives et leurs encouragements.*

Ce mémoire est le fruit d'un travail long et enrichissant. Nous sommes reconnaissantes à toutes les personnes qui nous ont accompagnés et soutenus dans cette aventure.

MERCI BEAUCOUP





Dédicace

A mes chers parents « Mohammed & Nadja »

Je dédie ce mémoire à vous le pilier de ma force et l'inspiration de mon succès, Aucune dédicace, si riche soit-elle, ne pourrait capturer l'immensité de ma gratitude pour vos sacrifices incessants. Depuis mon premier souffle jusqu'à l'aube de mon âge adulte, vous avez jalonné mon chemin de votre amour inconditionnel et de votre soutien indéfectible.

Je dédie ce mémoire à ma force intérieure, à ma persévérance, ma capacité à surmonter les obstacles, ma patience qui m'a permis d'accomplir mon cheminement.

Ce parcours universitaire n'a pas toujours été facile, Mais dans ces moments difficiles, c'est ma voix intérieure qui m'a poussée à me relever, à apprendre de mes erreurs et à continuer d'avancer.

*A vous les quatre, mes chers sœurs **Imen, Wissem, Khouloud** et mon frère **Adem**, je vous dédie ce mémoire avec tout mon amour, Vous êtes les étoiles qui ont guidé mon chemin et les lumières qui ont illuminé mon âme, Merci pour tes conseils avisés et ta sagesse infinie qui m'ont guidé dans les moments de confusion. Tu m'as appris à voir le monde avec des yeux différents et à prendre des décisions éclairées.*

*À mes amis extraordinaires **Affaf, Abir, Amel, Fatima, Maissa, Celina, Maroua**, et mon cousin **Anisse**, compagnons de route inestimables et confidentes de mes rêves, je dédie ce mémoire à votre amitié précieuse et à votre soutien indéfectible, au fil des années d'études, vous avez partagé mes joies, mes peines, mes doutes et mes aspirations.*

BENDJEBBARA Marwa





Dédicace

وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ

Avant tout, à Dieu le Tout-Puissant, louange à Lui, reconnaissance et gratitude pour le commencement et la fin.

"Qui la veut, l'obtient." Le chemin n'a pas été court, et il n'était pas censé l'être. Le but n'était pas simple à atteindre, et l'acheminement n'était pas facile. Mais je l'ai fait par l'aide de Bon Dieu je suis arrivée à le faire, et je l'ai réalisé.

Avec tout mon amour, je dédie le fruit de mon succès et de mon diplôme à celle qui a le Paradis sous ses pieds, celle dont le cœur m'a embrassé avant ses lèvres, À la lumière qui a illuminé ma route. Au cœur tendre qui a simplifié mon parcours et ces difficultés avec sa prière et son amour. à la bougie qui a été pour moi dans les nuits sombres, le secret de ma force et de mon succès, mon Paradis, "Ma chère mère".

À celui qui m'a donné les plus beaux noms, qui m'a soutenu sans limites et m'a donné sans rien attendre en retour. À celui qui m'a appris que la vie est un combat et que ses armes sont la science et la connaissance. Mon premier soutien dans mon parcours, mon pilier et mon refuge après Dieu, ma fierté et mon honneur, "Mon chère père".

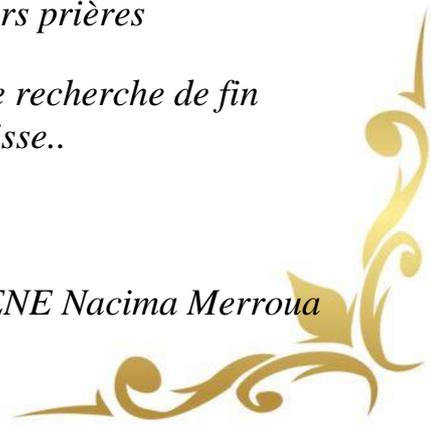
À ceux qui m'ont soutenus moralement qui m'ont encouragés et me faire confiance et pour leurs présence leur gentillesse, mes chers frères "Yasser et Abdelrahman". Que Dieu vous garde comme un pilier solide.

Aux anges que Dieu m'a accordés pour que je connaisse à travers eux le goût de la belle vie, ces anges qui ont changé les concepts d'amour, d'amitié et de soutien dans ma vie, mes sœurs "Safaa, Doha, Chahinez, Celina, Marwa et mes chères cousines Maissa et Wissem.

À mes chères tantes qui m'ont soutenus avec leurs prières

À mon cher oncle, qui m'a aidé à réaliser mon projet de recherche de fin d'études, que Dieu vous garde et vous bénisse..

BENMOUMENE Nacima Merroua





Dédicace

Louange à dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour attendu....

*A mon très cher père « **Abderazzak** » Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es.*

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension.

*Je dédie ce travail à ma lumière de vie maman « **Fadila** ». Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.*

Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que vous m'aviez déployé pour mon éducation et ma formation. Je vous aime papa et mama et j'implore le tout-puissant pour qu'il vous accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

Que dieu les protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

*A mes chères frère **Walid, Reda, Abdelghani** et mes sœurs **Yassmine Hind, Djedjigua** je vous remercie A tous les moments d'enfance passés avec vous, en gage de ma profonde estime pour l'aide que vous m'as apporté. Vous m'avez soutenu, réconforté et encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.*

*A mes chères amies que j'ai l'honneur à les rencontré **Maroua & Marwa Asma, Anissa et Achraf** aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements.*

Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle.

Un grand dédicace à mes cousins, cousine et A toute ma famille qu'ils étaient toujours à mes côtés avec leurs douaa.

BENIDIRI Louiza Celina



TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS

DÉDICACE

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INTRODUCTION..... 1

PARTIE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1	Généralités sur le lait cru de vache.....	3
1.1	Définition du lait cru.....	3
1.2	Les différents composants du lait cru de vache.....	3
1.2.1	L'eau.....	5
1.2.2	Matière grasse.....	5
1.2.3	Les protéines.....	5
1.2.4	Les glucides.....	5
1.2.5	Les minéraux.....	6
1.2.6	Les vitamines.....	6
1.3	Propriétés physico-chimiques du lait cru de vache.....	7
1.4	Caractéristiques microbiologiques du lait.....	8
1.4.1	Les flores microbiennes du lait.....	8
1.4.2	Flore indigène ou originelle.....	8
1.4.3	La flore de contamination.....	9
2	Généralité sur <i>Escherichia coli</i>	10
2.1	Historique et définition.....	10
2.2	Taxonomie et classification.....	10
2.3	Caractéristiques bactériologiques.....	11
2.3.1	Caractères Morphologique.....	11
2.3.2	Caractères culturels.....	11
2.3.3	Caractéristiques biochimiques.....	12
2.3.4	Caractères antigéniques.....	12
2.3.4.1	Antigènes somatiques O.....	12
2.3.4.2	Antigènes flagellaires H.....	13
2.3.4.3	Antigènes de surface ou d'enveloppe K.....	13

2.4	Pouvoir pathogène	14
3	Antibiotiques et Résistance aux antibiotiques	15
3.1	Définition des antibiotiques et histoire de découverte.....	15
3.2	Type d'antibiotique.....	16
3.2.1	Origine naturelle.....	16
3.3	Mécanisme et mode d'action	16
3.3.1	Antibiotiques agissants sur la paroi.....	16
3.3.2	Antibiotiques agissants sur la membrane plasmique.....	17
3.3.3	Antibiotiques agissants sur l'ADN.....	17
3.3.4	Antibiotiques agissants sur la synthèse des protéines :	17
3.3.5	Antibiotiques agissants sur la synthèse des folates	17
3.4	Résistance aux antibiotiques.....	18
3.4.1	Types d'antibiorésistance	19
3.4.1.1	La résistance naturelle	19
3.4.1.2	La résistance acquise	19
3.5	Mécanismes de résistance.....	20
3.5.1	Inactivation d'ATB par des enzymes	20
3.5.1.1	Les β -lactamases	21
3.5.1.2	Les aminosides	21
3.5.1.3	Les phénicolés	21
3.5.2	Efflux actif.....	21
3.5.3	Diminution de la perméabilité :	21
3.5.4	Modification de la cible.....	22
3.6	Mécanisme de résistance aux ATB chez <i>E. Coli</i>	22
3.7	Les causes de l'antibiorésistance <i>d'E. Coli</i>	23

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

1	Objectifs et méthodologie	24
1.1	Objectifs de l'étude.....	24
1.2	Présentation de la de la région d'étude	24
1.3	Prélèvements et analyse microbiologique	25
1.3.1	Prélèvement des échantillons de lait	25
1.3.2	Analyse microbiologique	26
1.3.2.1	Enrichissement.....	26

1.3.2.2	Ensemencement	27
1.3.3	Identifications des souches <i>d'Escherichia. Coli</i>	27
1.3.3.1	Identification morphologique	27
1.3.3.1.1	Examen macroscopique	27
1.3.3.1.2	Examen microscopique	27
1.3.3.1.3	Examen direct à l'état frais	27
1.3.3.1.4	Test de coloration de gram.....	28
1.3.3.2	Identification biochimique.....	28
1.3.3.3	Antibiogramme des souches <i>E. Coli</i>	31
1	Résultats	33
1.1	Prévalence des souches <i>d'E. Coli</i> isolées du lait de vache	33
1.2	Résultats d'antibiogramme	36
2	Discussion	38
	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	49
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	49

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Composition moyenne du lait entier (Fredot, 2006 ; Jeantet et al. 2017).....	4
Tableau 2: Composition minérale du lait de vache (Jeant et al, 2007).	6
Tableau 3: Composition vitaminique moyenne du lait cru (Amiot et al, 2002).....	7
Tableau 4: Propriétés physico-chimique du lait (Martin, 2000)	7
Tableau 5: Flore originale du lait cru de vache (Vignola, 2002).	8
Tableau 6: classification d'E coli selon le (Bergey's manual, 2012)	11
Tableau 7: Résultats des Tests TSI, Urée-Indole, Citrate de Simmons	35
Tableau 8: Profil de sensibilité des <i>E. coli</i> vis à vis de 12 antibiotiques	37

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Mode d'action des antibiotiques (Opatows. M ,2020).	18
Figure 2: Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques mis en place par les bactéries (adaptée de Muylaert A., et al., 2012).....	20
Figure 3: Carte géographique de la Wilaya d'Ain Témouchent (Gifex.com).....	25
Figure 4: Les échantillons du lait.	26
Figure 5: réalisation d'enrichissement	26
Figure 6: Prévalence d' <i>Escherichia coli</i> isolées du lait cru de vaches.....	33
Figure 7: image microscopique d' <i>E. Coli</i> après la coloration de gram.....	34
Figure 8: résultat de test de catalase.....	34
Figure 9: Images des résultats de gélose des tests TSI, Urée-Indole, Citrate de Simmons.....	36
Figure 10: Profil de sensibilité des <i>E. coli</i> vis à vis de 12 antibiotiques.....	37

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ATB : Antibiotique.

E. Coli : *Escherichia Coli*.

BLSE : Beta-Lactamase à Spectre Elargi.

TSI : Three Sugar Iron.

TB : Taux butyreux.

GG : Globules gras.

AG : Antigène.

AAF : Aéro-anaérobies facultatives.

ADH : D'arginine dihydrolase.

ADH : Dihydrolase.

LPS : Lipopolysaccharides.

NMEC : Neonatal meningitis *E. coli*.

EIEC : *E. coli* entéroinvasifs.

EHEC : *E. coli* entérohémorragiques.

ETEC : *E. coli* entérotoxinogènes.

IntEC : *E. coli* pathogènes intestinaux.

APEC : pathovar animal aviaire.

IntEC : *E. coli* pathogènes intestinaux.

UPEC : Uropathogenic *E. coli*.

EIEC : *E. coli* à adhésion diffuse.

UPEC : Uropathogenic *E. coli*.

NMEC : Neonatal meningitis *E. coli*.

OMS : L'Organisation mondiale de la santé

MLS : macrolides-lincosamimides streptogramines.

LPS : Lipopolysaccharide.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline.

BHIB : Bouillon Brain-Heart Infusion Broth.

EMB : Ensemence sur les géloses EMB.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

Ox : Oxydase.

TDA : Le tryptophane désaminase.

UFC : Unité Format Colonie.

Ml : Millilètre.



INTRODUCTION

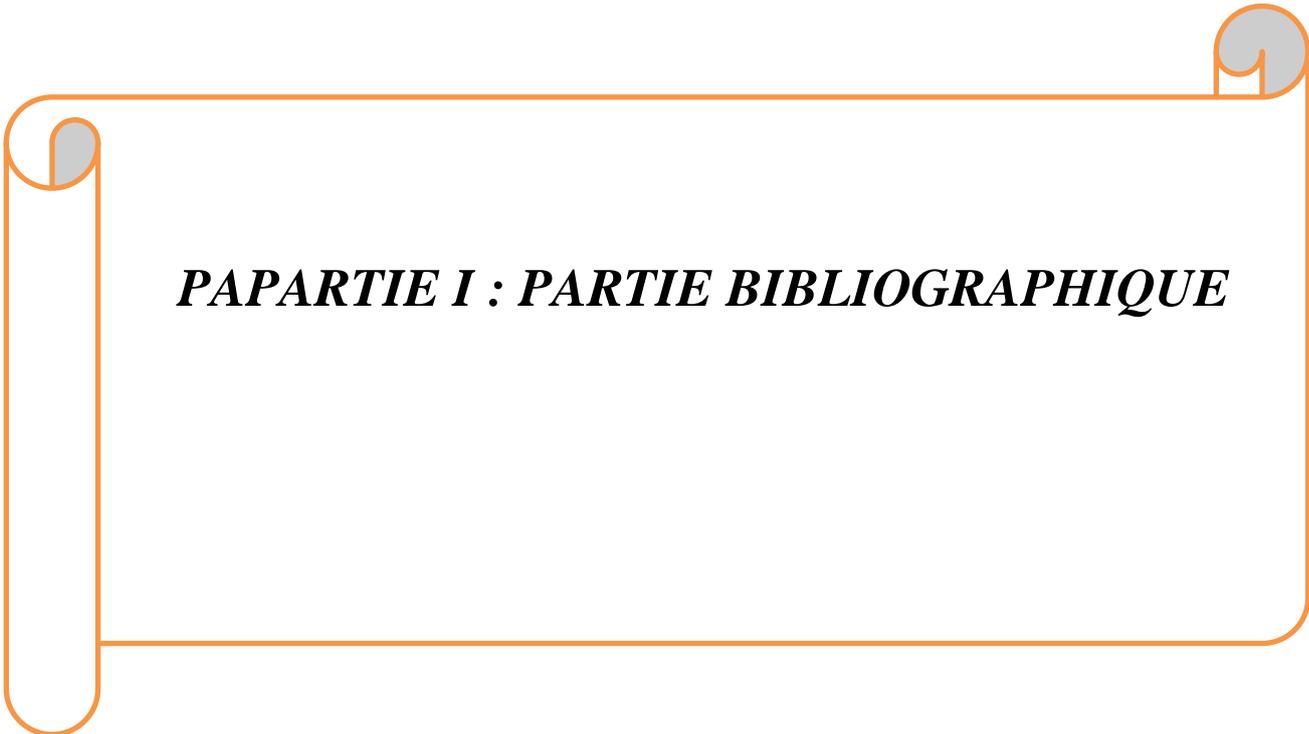
INTRODUCTION

Le lait de vache est l'une des sources les plus importantes de nutriments essentiels pour l'homme. Il occupe une place stratégique dans la ration alimentaire du citoyen. Il contribue pour 65,5 % dans la consommation de protéines d'origine animale, devançant largement les viandes (22,4 %) et les œufs (12,1 %) (**Makhlouf et al., 2015**). Le consommateur algérien a une tradition alimentaire marquée par une forte consommation de lait. En conséquence, le rapport annuel de consommation du lait est estimé à 115 L par habitant (**Bousbia et al., 2017**). Le lait est consommé dans le monde entier sous différentes formes, telles que le lait frais, les produits laitiers fermentés et transformés. De plus, en raison cette richesse en nutriments, il constitue un excellent milieu de culture pour les microorganismes (**Claeys et al., 2013**). Le lait cru est susceptible d'être contaminé par des bactéries nocives pour la santé. Ces bactéries contaminent le lait par voie endogène ou exogène. La contamination endogène signifie par le système sanguin ou la mamelle de la vache. La contamination exogène, quant à elle, a lieu pendant la traite ou la transformation du lait, et est souvent due à des problèmes d'hygiène des mamelles, du matériel ou de l'environnement.

Les bactéries pathogènes les plus fréquemment présentes dans le lait cru, sont *E. coli* et *Staphylococcus aureus* (**Verraes et al., 2015 ; N'Guessan et al., 2015**). Or, dans la plupart des pays africains, le lait est directement autoconsommé, le plus souvent à l'état cru échappant ainsi à tout contrôle de qualité. En effet, la sécurité alimentaire est aujourd'hui menacée par de nombreux agents pathogènes responsables d'une variété de maladies (**Mortari et al., 2014**). Les intoxications alimentaires sont considérées comme l'une des principales causes de toutes les maladies d'origine alimentaire. Elles ont un impact majeur sur la santé publique. Cependant, la qualité microbiologique du lait est d'une importance capitale pour garantir sa sécurité alimentaire. La prévalence plus élevée d'*E. Coli* est étroitement associée à l'hygiène du lait cru (**Radostits et al., 2007**). Par conséquent, l'étude sur *E. coli* dans le lait cru est significative. *E. Coli* n'est pas seulement susceptible d'être présente, mais aussi avec le développement rapide de la résistance aux antibiotiques (**Ntuli et al., 2016**). De plus, l'usage abusif et erroné des antibiotiques dans les troupeaux laitiers dans le but de traiter les infections mammaires, participent à l'émergence de bactéries résistantes, voire multirésistantes qui peuvent entraîner de sérieux risques pour la santé humaine (**Wang et al., 2015**). La résistance aux antibiotiques acquise a également un potentiel de transmission à l'homme et à d'autres animaux (**Ruegg et al., 2014**).

Le lait cru peut également faciliter la transmission de gènes de résistance aux antibiotiques dans le tractus gastro-intestinal humain, en plus de la présence de bactéries pathogènes. Une meilleure compréhension du profil de résistance des isolats d'*E. Coli* permettra de mieux comprendre les traitements appropriés pour la gestion des pathogènes (**Tark et al., 2016**). Par conséquent, la surveillance de la résistance aux antibiotiques de l'*E. Coli* dans le lait cru peut montrer la tendance ou les caractéristiques spécifiques de la résistance à l'antibiotique et aider à mieux prévenir ou traiter plus efficacement la mammite dans les fermes laitières. Ainsi, la surveillance de la résistance aux antibiotiques est cruciale pour assurer des résultats optimaux d'utilisation des antibiotiques et de minimiser le risque pour le développement et la propagation de la résistance aux antibiotiques (**Waller et al., 2011**). La résistance d'*E. Coli* est particulièrement préoccupant en raison de l'émergence de souches résistantes à plusieurs classes d'antibiotiques.

Notre travail a pour objectif d'une part d'étudier la prévalence de l'*E. Coli* dans le lait cru de vache prélevé au niveau des élevages de la wilaya d'Ain-Temouchent, et d'autre part d'étudier le profil de résistance des isolats vis-à-vis quelques antibiotiques.



PAPARTIE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1 Généralités sur le lait cru de vache.

1.1 Définition du lait cru

Le lait était défini en 1908 au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme étant « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il est important de recueillir le lait de manière propre et de ne pas inclure de colostrum selon **Berthelot (2018)**. D'après **Aboutayeb (2009)** et **Kizi et Makdoud (2014)**, il est également décrit comme un liquide blanc opaque, plus ou moins jaunâtre en fonction de la teneur en β -carotène de la matière grasse, avec une saveur légèrement sucrée. Il représente un aliment complet et équilibré produit par les glandes mammaires féminines et par celles des mammifères femelles pour nourrir les jeunes.

Selon Ben **Derderouch (2009)**, physico-chimiquement, le lait est un produit extrêmement complexe. Il dégage une odeur peu prononcée mais identifiable. Il s'agit du produit de sécrétion de la glande mammaire, obtenu par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ou soustraction, dont le nom de lait, sans mention de l'espèce animale de provenance, est réservé au lait de vache. Le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C, ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes (**Deforges et al., 1999**). D'après **Fredot (2006)**, 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.

1.2 Les différents composants du lait cru de vache

Selon **Lrbaoui (2017)**, le lait renferme des nutriments indispensables pour le corps humain et représente une source essentielle d'énergie alimentaire, de protéines et de graisses de qualité supérieure. Les besoins nutritionnels recommandés en calcium, magnésium, sélénium, riboflavine, vitamine B12 et acide pantothénique peuvent être très bien comblés par le lait. (**Fao ; 2017**). En tant qu'éléments essentiels : l'eau, la graisse, le lactose, les protéines et les éléments salins. Et en tant que composants mineurs : les vitamines, les oligo-éléments, les gaz dissous, la lécithine, les enzymes et les nucléotides. D'autres sont impliqués en raison de leur activité biologique (**Leymarios, 2010**).

Le lait contient des nutriments essentiels pour le corps humain et est une source importante d'énergie alimentaire, de protéines et de graisses de haute qualité (Lrbaoui, 2017). Le lait peut apporter une contribution significative aux besoins nutritionnels recommandés en calcium, magnésium, sélénium, riboflavine, vitamine B12 et acide pantothénique. (Fao ; 2017). Comme ingrédients principaux : l'eau, la matière grasse, le lactose, les protéines et les matières salines. Et comme éléments mineurs : les vitamines, les oligo-éléments, les gaz dissous, la lécithine, les enzymes et les nucléotides. Certains d'entre eux jouent un rôle en raison de leur activité biologique (Leymarios, 2010). Le tableau 1 résume la composition moyenne du lait entier.

Tableau 1: Composition moyenne du lait entier (Fredot, 2006 ; Jeantet et al. 2017).

Composants	Teneurs (g/100g)
Eau	89,5
Dérivés azotés	3,44
Protéines	3,27
Caséine	2,71
Protéines solubles	0,56
Azote non protéique	0,17
Matières grasses	3,50
Lipides neutres	3,40
Lipides complexes	<0,05
Composés liposolubles	<0,05
Glucides	4,80
Lactose	4,70
Gaz dissous	5% du volume du lait
Extrait sec total	12,8g

Selon Pougheon et al. (2001) les principaux constituants du lait par ordre croissant sont :

- L'eau, très majoritaire ;
- Les glucides principalement le lactose ;
- Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras ;

- Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire ;
- Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles ;
- Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments.

1.2.1 L'eau

Le lait est un mélange riche en eau, composé à 90%. Il joue un rôle crucial dans la composition du lait des bovins, car il est le principal composant du lait. La teneur en eau du lait est constante et est principalement influencée par la teneur en lactose. Selon **Homan et Wattiaux (1996)**, l'eau présente dans le lait est issue de l'apport sanguin, de l'eau de boisson consommée, de l'eau des aliments et de l'eau produite par les réactions chimiques du corps.

1.2.2 Matière grasse

En ce qui concerne la composition et la structure du lait, la matière grasse est le composant le plus fluctuant. On nomme taux butyreux (TB) la quantité de matières grasses présentes dans le lait. Chez les vaches, il varie de 33 à 47 g/L. Les matières grasses sont présentes dans le lait sous forme d'une émulsion de globules gras (GG) (**Roca-Fernandez, 2014**). Les matières grasses du lait sont composées essentiellement de 80 à 98% de triglycérides. Elles contiennent secondairement environ 0,6 à 1,1% de phospholipides, et de plus petite quantité de diglycérides (0,36%), monoglycérides (0,027%), phospholipides, cholestérol (0,31 à 0,46%) et ester de cholestérol, des traces de vitamines liposolubles (A, D, E, K), des acides gras libres (figure 1) (**Brulé et al., 2008; Ennuyer et Laumonnier, 2013**).

1.2.3 Les protéines

Le TP est une caractéristique importante du lait, le lait de vache contient 34g/L de matières azotées, dont 95 % sont des protéines, ou pour une faible part, des urées, des peptides ou des acides aminés. Les protéines sont principalement composées de caséines (80 %) et de protéines solubles (20 %) (**Léonil et al., 2013**).

1.2.4 Les glucides

Les glucides occupent la première place en termes de quantité après l'eau, représentant entre 4,6 % et 5,1 % du poids du lait. Le lait de vache est principalement composé de lactose, qui ne contient que quelques traces d'oligosaccharides et de monosaccharides. Le lactose est

un sucre particulier présent dans le lait. Le volume de lait produit est en partie régulé par son pouvoir osmotique. La concentration du lactose dans le lait est connue pour être très stable, allant de 48 à 50 g/L, ce qui correspond à 4,8 à 5,2 % du lait (**Roca-Fernandez, 2014**).

1.2.5 Les minéraux

Les minéraux, même s'ils sont moins nombreux que les autres composants du lait, jouent un rôle crucial tant sur le plan nutritionnel que technologique. Selon **Ennuyer et Laumonier (2013)**, la teneur en minéraux est d'environ 9g/L de lait. Cette teneur est sous l'influence de plusieurs facteurs tels que l'espèce, la race, le stade de lactation et l'alimentation. Les plus abondants sont le potassium (1,5g/L), le calcium (1,2g/L), le phosphore (0,9g/L), le sodium (0,45g/L) et le magnésium (0,12g/L). On trouve également du chlore (1,15g/L) et du citrate (1,7g/L) ainsi que des oligo-éléments (Zn, Fe, Cu, Mn, Se...) (Tableau2) (**Ennuyer et Laumonier, 2013; Fayolle, 2015**).

Tableau 2: Composition minérale du lait de vache (Jeant et al, 2007).

Elément minéraux	Concentration (mg, kg-1)
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphate inorganique	1805-2185
Citrate	1323-2079
Sodium	391-644
Potassium	1212-1207
Chlorure	772-1207

1.2.6 Les vitamines

Le lait de vache apporte un complément vitaminique important dans la ration alimentaire. Selon **Mehnoune et Ferhoul (2015)**, les vitamines sont définies comme des molécules complexes de taille inférieure aux protéines, avec une structure très diversifiée et un lien étroit avec les enzymes. En effet, elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique. Les teneurs moyennes des vitamines hydrosolubles et liposolubles dans le lait sont portées dans le tableau 3.

Tableau 3: Composition vitaminique moyenne du lait cru (Amiot et al, 2002).

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamines liposolubles	
Vitamines A (carotènes)	40 µg / 100 ml
Vitamine D	2,4 µg / 100 ml
vitamine E	100 µg / 100 ml
Vitamine K	5µg/100 ml
Vitamines hydrosolubles	
Vitamine C (acide ascorbique)	2µg/100ml
Vitamine B1 (thiamine)	45µg/100ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175µg/100 ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100 ml
Vitamine B12 (cyan cobalamine)	0,45 µg/100 ml
Vitamine folique	5,5 µg/100ml
Vitamine H (biotine)	3,5 µg/100ml

1.3 Propriétés physico-chimiques du lait cru de vache

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité, le pH (Amiot et *al.*, 2002). Ceci se résume dans le tableau 4.

Tableau 4: Propriétés physico-chimique du lait (Martin, 2000)

Densité du lait à 20C°	1,028 à 1,034
Point de congélation (C°)	-0,530 à -0,555
pH à 20C°	6,6 à 6,8
Acidité titrable (°D)	15 à 18 °D
Activité de l'eau à 20 °C	0,99
Point d'ébullition (°C)	100,5
Masse volumique à 20 °C	1028 – 1034 kg/m ³

1.4 Caractéristiques microbiologiques du lait

1.4.1 Les flores microbiennes du lait

Divers micro-organismes peuvent être retrouvés dans le lait cru de vache. Les plus rencontrés sont les bactéries, mais des levures, des moisissures, des virus et divers protozoaires peuvent également être présents. Un grand nombre d'espèces bactériennes peuvent se développer dans le lait, qui leur offre un substrat nutritif très riche. Dans le lait, elles produisent des gaz, des composés aromatiques, de l'acide lactique, différentes substances protéiques, voire des toxines pouvant causer des maladies chez l'homme (**Beuvier et al., 2008**). On répartit les flores microbiennes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : La flore indigène ou originelle et la flore contaminant. Cette dernière est subdivisée en deux sous classe : la flore d'altération et la flore pathogène (**Vignola., 2002**).

1.4.2 Flore indigène ou originale

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis (**Vignola, 2002**). Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml) (**Cuq, 2007**). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes de la mamelle et des canaux galactophores : *Microcoques*, *Lactobacilles* et *Streptocoques lactiques*. D'autres micro-organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade, ils sont généralement pathogène du point de vue sanitaire. Il s'agit d'agents de mammites c'est à dire d'infection du pis : *Streptococcus pyogènes*, *Corynébacterium pyogènes*, *Staphylococcus aureus*. Le Lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées « lacténines » mais leur action est de très courte durée environ 1 heure (Tableau 5) (**Guiraud, 2003**).

Tableau 5: Flore originale du lait cru de vache (Vignola, 2002).

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus sp</i>	10-30
<i>Streptococcus sp ou Lactococcus sp</i>	< 10
<i>Gram négatif</i>	< 10

1.4.3 La flore de contamination

Il s'agit de toutes les bactéries qui contaminent le lait, depuis sa récolte jusqu'à sa consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération (flore aérobie mésophile, bactérie de type coliforme, streptocoques D, levures et moisissures), qui peut entraîner des défauts sensoriels ou diminuer la durée de conservation des produits, ainsi qu'une flore pathogène (*Staphylococcus aureus*, *Salmonelles*, *Escherichia coli*) qui présente un danger sanitaire. (Vignola, 2002).

2 Généralité sur *Escherichia coli*

2.1 Historique et définition

Escherichia coli, également appelée colibacille, a été décrit pour la première fois en 1885 après avoir été isolée dans des selles de nourrissons par l'allemand Theodor Escherich. En 1919, Castellani et Chambert lui rendent hommage en nommant cette bactérie *E. Coli* (**Grimont, 1987**). Durant les années 1920 et 1930, plusieurs chercheurs essayèrent d'identifier les types spécifiques d *E. coli* responsables des entéropathies, mais aucun progrès significatif ne fut réalisé jusqu'à la mise au point par Kauffmann, dans les années 1940, d'un schéma de sérotypes précis. Ainsi, à partir des années 1950, de nombreuses souches de *E. coli* appartenant à des sérotypes particuliers ont été répertoriées, chez l'homme comme chez l'animal, comme étant des souches pathogènes responsables d'affections variées allant d'une simple diarrhée à des infections systémiques sévères voire mortelles (**Nataro et Kaper, 1998 ; Kaper et al., 2004**). Elle est commensale de la flore digestive des animaux. Elle est massivement excrétée dans les fèces et dans l'environnement (**Horvatić et al., 2018**). Lors de mammites bovines, les bactéries isolées ne sont pas considérées comme un groupe pathogène spécifique mais semblent provenir de la flore digestive et de l'environnement (**CristianCarip et al., 2008 ; Richards et al, 2015**).

2.2 Taxonomie et classification

E. coli représente l'espèce type du genre *Escherichia*. Le genre *Escherichia* appartient à la famille des Enterobacteriaceae dans le règne des procaryotes. Le genre *Escherichia* comprend: *Escherichia albertii*, *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii* et *Escherichia vulneris* (**Octavia et Lan, 2014**). Chaque espèce d'*Escherichia* présente des caractéristiques biochimiques propres permettant de les différencier les unes des autres (**Vimont, 2007**). De plus, elle a été caractérisée sur les plans phénotypique, biochimique et physiologique. Aujourd'hui, ce sont des techniques basées sur l'utilisation de l'ADN qui permettent une étude génétique des populations et la caractérisation des différentes souches d'*E. Coli*. (**Gilcrease et Casjens, 2018**). La classification de l'espèce selon le Bergey's manual, (2012) est résumé dans tableau 6.

Tableau 6: classification d'E coli selon le (Bergey's manual, 2012)

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia (E. coli)</i>

2.3 Caractéristiques bactériologiques

2.3.1 Caractères Morphologique

E. Coli est un bacille de forme cylindrique (bâtonnet) ou coccobacillaire, Gram négatif uniformément coloré, non sporulé, parfois capsulé, de 2µm à 3µm de long sur 0,5µm de large, généralement polymorphes. Les cellules de *E. coli* se présentent soit seules ou groupées, le plus souvent par deux (diplobacilles), très rarement elles sont rencontrées en amas ; C'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche. Elles sont mobiles grâce à une ciliature péritriche. Elle se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques (Avril J, 2000 ; Grosjean et Pasquier, 2009).

2.3.2 Caractères cultureux

E. coli est une bactérie mésophile, son optimum de croissance est proche de la température corporelle des animaux à sang chaud (35-43°C). La limite de croissance inférieure se situe aux environs de 7°C. Les *E. coli* sont tués rapidement lorsque la température dépasse 70°C, comme dans le processus de pasteurisation. La plupart des souches de *E coli* sont capables de multiplier sur des milieux ordinaires à base de peptone ou d'extraits de viande et sont non halophiles. Elles sont aéro-anaérobies facultatives (AAF) formant sur des milieux gélosés ordinaires ou sélectifs des colonies typiques de types (S) (Cohen et Karib, 2006 ; Jean et al., 2007). Elle se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur

gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques (Avril *et al.*, 2000). Outre la température, le pH et l'*a_w* peuvent aussi influencer la multiplication d'*E. Coli* dont l'optimum de croissance est de 7,2 et 0,99 respectivement. La croissance d'*E. Coli* est arrêtée à des pH extrêmes (<3,8 ou >9,5) et à une valeur d'*a_w* inférieure à 0,94. Le degré d'acidité d'un produit peut donc constituer un facteur de protection pour sa sécurité (Jean *et al.*, 2007 ; Micali *et al.*, 2018).

2.3.3 Caractéristiques biochimiques

Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* possèdent des caractères biochimiques particuliers permettant de la différencier des autres espèces (Farmer *et al.*, 2007). Cette bactérie a un métabolisme respiratoire, fermentent le glucose avec souvent production de gaz, ne produisent pas d'enzymes extracellulaires (protéases, DNases, lipases), ne produisent pas d'H₂S, n'hydrolysent pas l'urée, ne désaminent pas le tryptophane ou la phénylalanine. Les *E. coli* fermentent également l'arabinose, le mannose, le mannitol, et le maltose, mais pas l'inositol, et ont souvent un test de l'ONPG positif. *E. coli* possède une catalase mais dépourvue de l'oxydase, elle produit de l'indole à partir du tryptophane et n'utilise pas le citrate comme source de carbone. Elle ne possède pas d'arginine dihydrolase ADH. Par contre, elle produit une réaction positive au méthyl rouge mais négative à la réaction de Voges-Proskauer (Joly et Reynaud, 2006; Freney *et al.*, 2007 ; Bidet et Bingen, 2011).

2.3.4 Caractères antigéniques

E. coli possède des antigènes associés à quatre types de structures. Les antigènes de paroi (somatiques) ou antigènes O correspondent aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS). L'antigène somatique O, définissant le sérotype, est contenu dans les lipopolysaccharides présents sur la paroi bactérienne des souches à Gram négatif. L'antigène flagellaire H est de nature protéique entrant dans la structure du flagelle (ciliature péritriche) permettant la mobilité de la bactérie. L'antigène K de surface n'est pas toujours présent mais s'il l'est, il bloque l'agglutinabilité de l'antigène O (Survillane, 1997 ; Kaper *et al.*, 2004).

2.3.4.1 Antigènes somatiques O

Il existe plus de 150 antigènes somatiques. Ils sont composés de lipopolysaccharides complexes. Actuellement, certains laboratoires d'analyses médicales utilisent l'agglutination avec des sérums pour déterminer le sérotype. Mais cette technique est limitée par le nombre

de plus en plus élevé de sérums à fabriquer, par la présence d'agglutinations croisées d'antigènes O d'*E. Coli*, *Shigella* et ceux de *Salmonella*, et par le message de la consistance crémeuse de la colonie à une consistance rigoureuse ayant pour conséquence l'absence de synthèse de l'antigène O. Les gènes codants pour les enzymes impliquées dans la synthèse de l'antigène O sont regroupés dans le groupe de gènes rfb. Ce groupe rfb peut être amplifié spécifiquement grâce à un système d'amorces puis, après restriction par l'endonucléase MbolIII, un profil noté « R » peut être obtenu par électrophorèse, correspondant à un séro groupe d'*E. coli* (Surveillane, 1997).

2.3.4.2 Antigènes flagellaires H

Les antigènes H ne servent pas à l'identification des *E. coli* pathogènes mais présentent un grand intérêt du point de vue épidémiologique : l'identité de l'antigène H constitue un élément pour assurer qu'il s'agit d'une même souche. L'antigène H est codé par le gène fliC. Les parties N et C terminales de la flagelline sont très conservés et c'est la partie médiane, qui est plus variable, qui donne la spécificité de l'antigène H. Les *E. coli* immobiles possèdent également le gène fliC mais sont incapables de synthétiser un flagelle, après restriction et amplification du gène fliC il est possible de typer l'antigène H en comparant le profil obtenu à une base de données de profil-type. Par exemple, le profil fliC (noté F) aura un numéro F8, correspondant au type H8 obtenu avec le sérum (Surveillane ,1997)

2.3.4.3 Antigènes de surface ou d'enveloppe K

Il existe 3 types de l'antigène K désignés par les lettres L, A ou B.

-L'antigène L est le plus fréquent mais thermolabile (il est détruit en une demi-heure, à 100°C). Donc le chauffage provoque une perte de pouvoir antigénique, du pouvoir de fixer les anticorps et du pouvoir de masquer l'antigène O.

-L'antigène A est rare ; c'est un antigène capsulaire (les *E. coli* encapsulés sont relativement fréquents dans les infections urinaires). L'Ag A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire).

-L'antigène B est toujours présent chez les *E. coli* enter pathogènes de gastroentérite infantile. Il a une thermolabilité intermédiaire : après une demi-heure à 100°C, il reste toujours de l'antigène B mais l'antigène O peut entrer en contact avec le sérum par « trouage » de

l'enveloppe. La fixation de l'anticorps est toujours positive mais le pouvoir antigénique se perd progressivement (en fonction de la durée de chauffage) (**Survillane, 1997**).

2.4 Pouvoir pathogène

E coli est classé comme un pathogène opportuniste de l'environnement. L'espèce *E. coli* appartient à la microflore commensale de l'Homme et de nombreux animaux. *E. Coli* est un agent ubiquiste faisant partie de la flore gastro-intestinale normale des mammifères (**Gordon et Cowling, 2003**).

La plus part des souches d'*E coli* sont inoffensives par contre, certaines souches ont réussi à acquérir des attributs spécifiques leur permettant une adaptation à de nouvelles niches et leur offrant la capacité de causé diverse maladies (**Kaper et al, 2004**). *E. Coli* est l'une des espèces bactériennes le plus souvent rencontrée en pathologie humaine. Elle regroupe des souches commensales de l'intestin de l'homme et des animaux de même que des souches responsables de pathologies intestinales comme les diarrhées aiguës. Certaines souches d'*E. coli* sont impliquées dans plusieurs infections extra-intestinales importantes de l'homme telles que les infections urinaires, abdominales et méningées. *E. coli* est le micro-organisme le plus fréquemment impliqué dans plusieurs infections urinaires acquises en ville. Il est également responsable d'infections nosocomiales, notamment des infections des plaies chirurgicales et des bactériémies (Alain et Bernard, 2002). Les souches d'*E. Coli* pathogènes peuvent être séparés en deux grands groupes en fonction du type d'infection dont elles sont à l'origine. Le premier groupe nommé *E. coli* pathogènes intestinaux (IntEC) est à l'origine de syndromes diarrhéiques et comprend six groupes pathogènes ou pathovars. Il s'agit des *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC), des *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), des *E. coli* entéroagréatifs (EAEC), des *E. coli* à adhésion diffuse (DAEC), des *E. coli* entéropathogènes (EPEC) et des *E. coli* entéroinvasifs (EIEC). Le deuxième groupe, nommé ExPEC pour *E. coli* pathogènes extra-intestinaux, comprend les souches à l'origine d'infections du tractus urinaire (Uropathogenic *E. coli* ou UPEC), les souches à l'origine de méningites et de septicémies (neonatal meningitis *E. coli* ou NMEC) et le pathovar animal aviaire (APEC) (**kaper et al., 2004 ; Croxen et Finlay, 2010 ; Conrad et al., 2016**).

3 Antibiotiques et Résistance aux antibiotiques

3.1 Définition des antibiotiques et histoire de découverte

Le mot antibiotique (du Grec anti : contre, bio : la vie) est défini comme étant un agent antimicrobien naturel, d'origine biologique et /ou synthétique et/ou semi synthétique qui à faible concentration, agit sur des bactéries sans être toxique pour l'hôte. L'importance des antibiotiques est considérée en raison de leur efficacité en médecine humaine et animale. Ils ont contribué à l'essor de l'élevage et constituent la première classe de médicaments vétérinaires dans le monde. Ils empêchent la multiplication des bactéries (bactériostase) ou entraînent leur destruction (bactéricide) par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie (**Lavigne, 2007 ; Mehdi ,2008**). Il doit avoir une toxicité sélective envers l'agent infectieux sans toutefois affecter l'organisme hôte infecté par les germes pathogènes (**Gautier, 2007**).

La spécificité d'action des antibiotiques s'appuie sur les différences métaboliques et structurales existantes entre les cellules procaryotes et eucaryotes. L'ensemble des bactéries affecté par un antibiotique donné est appelé le spectre d'activité de cet antibiotique. Les antibiotiques efficaces contre de nombreuses bactéries Gram positif et négatif sont dits à "large spectre", tandis que ceux actifs uniquement contre certaines bactéries Gram positif ou Gram négatif sont dits à "spectre étroit" (**Walsh, 2003**).

La pénicilline, produite à partir de moisissures du genre *Penicillium*, a été nommée par Alexander Fleming, en 1928, après qu'il eut remarqué sa capacité à inhiber la croissance de bactéries dans des boîtes de culture. La pénicilline a été produite sous forme de médicament dans les années 1940 par Norman Heatley, Ernst Chain et Howard Florey pendant la guerre, en Angleterre. Elle a permis de traiter efficacement les infections bactériennes d'abord chez les souris puis, peu de temps après, chez l'être humain, permettant de guérir des maladies auparavant incurables. Sa grande efficacité et le nombre d'effets secondaires relativement inférieur à celui des agents thérapeutiques tels que les sulfamides, lui ont donné l'apparence d'un « médicament miracle » (**Landecker, 2021**).

3.2 Type d'antibiotique

3.2.1 Origine naturelle

Parmi les 10 000 antibiotiques d'origine naturelle recensés dans le monde, 20 % Proviennent de champignons : *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Aspergillus*, 70 % proviennent d'actinomycètes microfilaments dont le genre *Streptomyces* est un producteur majeur d'antibiotiques : tétracyclines, aminoglycosides et 10 % proviennent des bactéries (non actinomycètes), en particulier des genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. La bacitracine utilisée pour certains traitements locaux en est un exemple. (Mehdi, 2008).

1.1.Origine synthétique

Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organismes. Parmi les antibiotiques d'origine synthétiques on distingue : Sulfamides, métronidazole, isoniazide, acide nalidixique et les fluor-quinolones, pénèmes. On distingue aussi des antibiotiques d'origine semi-synthétique, ils sont obtenus en modifiant en laboratoire une substance produite par un micro-organisme. (Mehdi. S. 2008).

3.3 Mécanisme et mode d'action

Les propriétés bactériostatiques ou bactéricides des antibiotiques proviennent de leur capacité à bloquer une étape d'un mécanisme essentiel à la multiplication ou à la survie des bactéries. Pour cela, ils visent une cible spécifique de la cellule bactérienne, présentant ainsi une toxicité sélective, c'est-à dire, qu'aux doses utilisées, ils n'affectent que certaines bactéries et non pas l'hôte infecté. (figure1)(Opatows, 2020).

3.3.1 Antibiotiques agissants sur la paroi

Certains antibiotiques bloquent la synthèse d'éléments de la paroi bactérienne, dont le rôle est de maintenir la pression osmotique et protéger la bactérie du monde extérieur. La membrane de la cellule est alors fragilisée, et la lyse bactérienne survient. Ce blocage confère une activité bactéricide. Ce mécanisme entre en jeu pour les bêta-lactamines, comme les pénicillines ou les céphalosporines, la fosfomycine, ou encore les glycopeptides, comme la vancomycine. (Opatows. M ,2020).

3.3.2 Antibiotiques agissants sur la membrane plasmique

D'autres agissent sur l'intégrité de la membrane plasmique de la bactérie, qui permet de retenir les éléments nécessaires à sa survie dans le cytoplasme, et de maintenir un gradient chimio-osmotique. Les antibiotiques peuvent agir sur cette membrane de deux façons : en désorganisant sa structure, ou en formant un canal dans la membrane, entraînant la fuite des composés cellulaires. On retrouve ce procédé chez les polymyxines par exemple (**Opatows, 2020**).

3.3.3 Antibiotiques agissants sur l'ADN

Les antibiotiques peuvent aussi bloquer la réplication de l'ADN bactérien ou la transcription de l'ADN en ARN, suivant différents mécanismes. Pour cela, ils doivent pénétrer dans la cellule et interrompre un élément de la chaîne de réplication. Ce processus concerne les quinolones ou la rifamycine. (**Opatows, 2020**).

3.3.4 Antibiotiques agissants sur la synthèse des protéines :

D'autres inhibent la synthèse des protéines, essentielle à la survie de la cellule. L'antibiotique pénètre dans la cellule, et bloque le ribosome bactérien, structure du cytoplasme nécessaire à la synthèse des protéines. De nombreux antibiotiques fréquemment utilisés ont pour cible le ribosome, comme les aminosides, les cyclines, ou les macrolides. (**Opatows, 2020**).

3.3.5 Antibiotiques agissants sur la synthèse des folates

Enfin, certains antibiotiques inhibent la synthèse des folates, éléments essentiels à la formation de constituants nécessaires à la survie cellulaire : lipides, acides aminés, nucléotides. Ce mécanisme concerne les sulfamides par exemple. (**Opatows, 2020**).

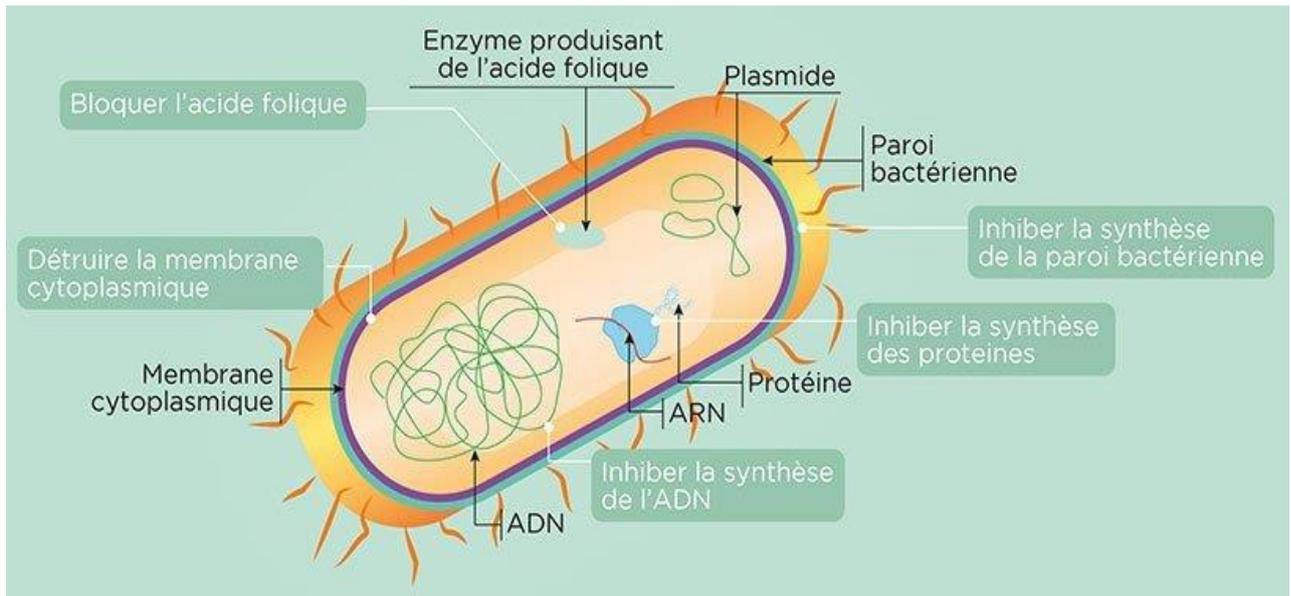


Figure 1: Mode d'action des antibiotiques (Opatows. M ,2020).

3.4 Résistance aux antibiotiques

Les préoccupations actuelles en matière de santé publique portent sur l'antibiorésistance, que ce soit en médecine vétérinaire ou en médecine humaine. Cette prise de conscience peut être attribuée à l'augmentation des résistances aux antibiotiques de dernière génération (Méheust et al, 2016). L'antibiorésistance fait référence à tous les mécanismes d'adaptation employés par les bactéries afin de se protéger contre les antibiotiques. Dans la réalité, cela se manifeste par une infection qui ne sera pas soumise à un traitement pourtant approprié (D'Costa et al, 2011 ; Arquembourg, 2017, Savic, 2018).

Chaque année, des milliers de personnes meurent des suites d'infections causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques. L'incidence croissante de la résistance aux antibiotiques a été décrite comme une menace de santé publique mondiale (Christine M, (2015), Parallèlement, sur le plan international, le rapport de l'Organisation mondiale de la santé (oms) lançait un cri d'alarme : l'antibiorésistance y est désignée comme « une menace majeure » (Jocelyne, 2016). En effet, ils ont eu un impact à ce point considérable sur le traitement des maladies infectieuses que l'on a affirmé qu'ils permettraient de « faire des maladies infectieuses une chose du passé ». Nous savons aujourd'hui que tel n'est pas le cas. L'usage croissant des antibiothérapies en médecine a mené à une dépendance excessive chez les patients et à une surprescription par les professionnels. (Christine, 2015).

3.4.1 Types d'antibiorésistance

Il existe deux types de résistance portée par la bactérie, les résistances naturelles ou intrinsèques et les résistances acquises qui sont beaucoup plus fréquentes.

3.4.1.1 La résistance naturelle

La résistance bactérienne naturelle, innée ou intrinsèque est programmée sur le génome (essentiellement chromosomique) et constant à l'intérieur du taxon. Ces souches peuvent très bien n'avoir jamais été en contact avec l'antibiotique en question. La résistance est donc liée aux propriétés naturelles des bactéries (**Vittecoq et al. 2016**). Elle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire. Elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce et est commune à toutes les bactéries d'une même espèce (**Sabtu et al., 2015**).

Il est possible que cela soit causé par des caractéristiques structurales qui entravent l'action de l'antibiotique sur sa cible. Selon **Hollenbeck (2012)**, **Muylaert et Mainil (2012)**, la résistance naturelle peut être influencée par l'expression d'une enzyme d'inactivation constitutive ou induite, ainsi que par la mise en place d'un processus d'échappement à l'antibiotique. Cela implique un manque d'affinité du composé pour la cible bactérienne, une inaccessibilité de la molécule à la cellule bactérienne, une expulsion de l'antibiotique par des pompes à efflux chromosomiques et une inactivation enzymatique innée de cet antibiotique (**Guinoiseau E., 2010**).

3.4.1.2 La résistance acquise

À la différence des résistances naturelles, la résistance acquise résulte de modifications de l'équipement génétique impliqué. Selon **Buard (2013) et Sabtu et al. (2015)**, la résistance acquise entraîne une résistance à un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était sensible auparavant. Elle est définie comme une propriété spécifique à certaines souches bactériennes d'un genre ou d'une espèce spécifique qui entraîne l'apparition et la propagation de résistances au sein de populations de germes habituellement sensibles (**Sabtu et al., 2015**). On a décrit deux phénomènes principaux qui sont à l'origine de l'acquisition de résistances par modification du génome bactérien. Les résistances endogènes sont causées par des mutations, tandis que les résistances exogènes sont causées par l'acquisition horizontale de matériel

génétique étranger. Certains obstacles découlent également de l'association d'une mutation et d'un transfert horizontal de gène (Guillemot et al, 2006, Martínez et Baquero, 2014).

3.5 Mécanismes de résistance

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des antibiotiques. Les mécanismes de résistance sont nombreux et les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la réduction de la perméabilité membranaire de la molécule (figure 2). D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique ont été également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés (Muylaert et al, 2012).

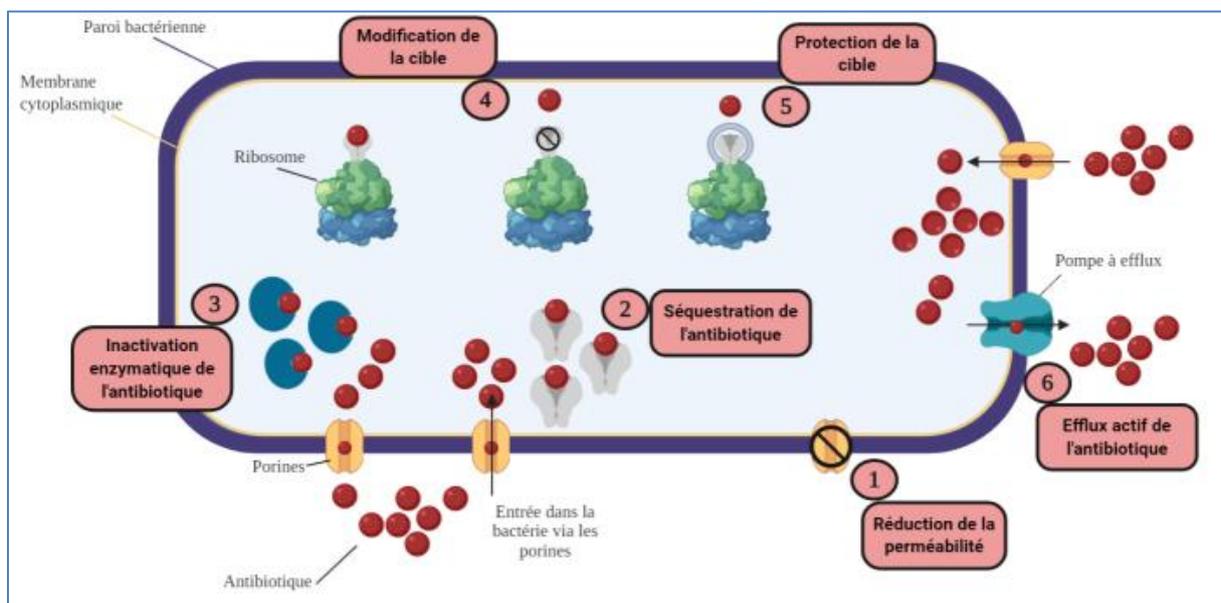


Figure 2: Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques mis en place par les bactéries (adaptée de Muylaert A., et al., 2012)

3.5.1 Inactivation d'ATB par des enzymes

La plus fréquente, importante et très variée, Par ce mécanisme, la bactérie acquiert la capacité d'inactiver l'action des ATB par la sécrétion d'enzymes avant même qu'ils n'aient pénétrés au sein du microorganisme pour les dégradent ou modifient l'ATB afin de le rendre inactif. Les classes d'antibiotiques visées par ces enzymes sont les β lactamines les macrolides-lincosamimides streptogramines (MLS), les aminosides et les phénicolés. (Bevilacqua, 2011).

3.5.1.1 Les β -lactamases

La production de bétalactamase est un mécanisme que l'on retrouve aussi bien chez les bactéries Gram positives que Gram négative, il s'agit du mode de résistance le plus courant. **(Bevilacqua, 2011).**

3.5.1.2 Les aminosides

L'inactivation enzymatique des aminosides est le mécanisme de résistance le plus souvent observé. Il permet d'expliquer la résistance de plus de 95% des souches d'entérobactéries résistantes aux aminosides, de 95% des souches d'*Acinetobacter spp.*, de 50% des souches de *Pseudomonas aeruginosa* et de 95% des souches de bactéries à Gram positif. **(Bevilacqua, 2011).**

3.5.1.3 Les phénicolés

Pour le chloramphénicol et le thiamphénicol, l'inactivation enzymatique est le mécanisme de résistance le plus fréquent. Elle agit par acétylation par un chloramphénicol acétyltransférase du groupement hydroxyle de la molécule. **(Bevilacqua.S, 2011).**

3.5.2 Efflux actif

La découverte de la résistance par efflux date de 1963 lorsque deux scientifiques japonais observèrent qu'une souche d'*E. Coli* multi-résistante accumulait moins d'oxytétracycline au niveau intracellulaire qu'une souche sensible, En 1980, Stuart B. Levy démontra que ce phénomène résultait d'un mécanisme. Médié par des transporteurs membranaires appelés « pompes d'efflux », il se traduit par le rejet de diverses substances hors de la cellule bactérienne sans altération ou dégradation du composé .ces nano-machines moléculaires ont pour fonction de maintenir l'homéostasie cellulaire **(Guénard, 2013).**en empêchant l'accumulation de substances naturelles ou synthétiques nocives et en facilitant le transport des nutriments et l'exportation des substances toxiques. **(Bevilacqua, 2011).**

3.5.3 Diminution de la perméabilité :

Les porines sont des canaux aqueux ou hydrophiles constitués de trois molécules de protéines qui laissent diffuser diverses molécules de faible masse moléculaire comme des substrats ou encore des antibiotiques. **(Philippon A., 2004).**

Les antibiotiques très lipophiles, tels que les macrolides, ont beaucoup de mal à traverser la membrane externe des bactéries Gram- à cause de la présence protectrice de Lipopolysaccharide (LPS). Quant aux molécules hydrophiles, elles doivent passer la couche de LPS à travers des porines plus ou moins spécifiques. La diminution ou le caractère non fonctionnel de ces porines rendent la bactérie beaucoup moins sensible par une diminution de la diffusion. Si plusieurs antibiotiques utilisent la porine en cause, alors l'efficacité de tous ces antibiotiques s'en trouve altérée. Ce mécanisme se retrouve essentiellement chez les *entérobactéries* et les *Pseudomonas*. Enfin, le passage de la membrane cytoplasmique nécessite parfois des enzymes appelées perméases « énergie-dépendantes ». Si le potentiel de membrane et/ou le transfert d'électron sont trop faibles alors ces perméases ne sont pas fonctionnelles et l'antibiotique ne peut pas pénétrer dans la bactérie (Peyrou, 2001).

3.5.4 Modification de la cible

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les sulfamidés, les diaminopyrimidines (triméthoprim) et les bêta-lactames dont les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) ainsi qu'à toutes les bêtalactames d'usage vétérinaire. (guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

3.6 Mécanisme de résistance aux ATB chez *E. Coli*

Cette bactérie est caractérisée par une aptitude particulière à acquérir des mécanismes de résistances à des antibiotiques habituellement actifs, pouvant parfois survenir en cours d'antibiothérapie. Le principal mécanisme de résistance est la production de bêtalactamases, enzymes qui hydrolysent le cycle bêtalactame et rendent donc la bactérie résistante à certaines bêtalactamines y compris la pénicilline, les céphalosporines et les carbapénèmes. Cette mise au point décrit les mécanismes de résistance enzymatique d'*E. Coli* aux β -lactamines. Elle insiste sur le fait que l'évolution continue de la résistance des bactéries implique la nécessité d'une connaissance actualisée des taux de prévalence de résistance ainsi qu'une appréhension des facteurs de risque de cette résistance notamment grâce à des études prospectives.

(Lavigne. et Sotto, 2008). Chez *E. Coli*, un tel complexe protéique existe et son rôle est déjà partiellement connu : la pompe AcrAB-TolC Il s'agit d'une pompe à efflux non spécifique dont l'activité est finement régulée et qui prend en charge une très grande variété de xénobiotiques. Chez les bactéries Gram-négatives, bon nombre de ces transporteurs forment des « pompes » à plusieurs composants qui s'étendent à la fois sur les membranes internes et externes et sont entraînées énergiquement par un composant de transporteur primaire ou secondaire. Un système modèle pour une telle pompe est le complexe de résistance à l'acridine *d'E coli*. **(Du et al, 2014).**

3.7 Les causes de l'antibiorésistance *d'E. Coli*

E. coli développe une résistance aux antibiotiques par divers mécanismes. Une cause importante est l'évolution d'isolats multirésistants et la propagation d'espèces productrices de β -lactamases à spectre étendu, ce qui a un impact sur l'efficacité des antibiotiques, De plus, l'utilisation abusive d'antibiotiques contribue à la résistance *d'E. Coli*, en particulier à des médicaments comme l'ampicilline, ce qui compromet le traitement clinique. L'agent pathogène utilise divers mécanismes de résistance, tels que les enzymes modifiant les aminoglycosides, les β -lactamases et les pompes à efflux, pour contrecarrer les agents antimicrobiens **(Alves, H. C., et al, 2022)**. De plus, l'émergence continue de nouveaux mécanismes de résistance aux antibiotiques de dernier recours comme la fosfomycine et les polymyxines posent des défis dans la lutte efficace contre les infections à *E. Coli* **(Young-Min Kwon, 2023)**. La surveillance de la sensibilité *d'E. Coli* aux antibiotiques est crucial, car les gènes de résistance se propagent rapidement entre les souches, ce qui nécessite une meilleure surveillance de la résistance et des stratégies de traitement adaptées basées sur les profils de résistance **(Artem et al. 2022)**.



PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE



OBJECTIFS ET METHODOLOGIE

1 Objectifs et méthodologie

1.1 Objectifs de l'étude

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la prévalence des souches *d'E. Coli* isolées des à partir du lait cru de vache, puis analyser les profils d'antibiorésistance de ces souches bactériennes provenant de la région d'Ain-Temouchent. Nous allons déterminer les risques associés à *E. coli* et envisageons d'analyser la sensibilité aux antibiotiques de ces souches en utilisant des méthodes et des tests normalisés. Les résultats de cette recherche pourraient donner des renseignements sur la portée de la résistance aux antibiotiques parmi les souches isolées, des informations cruciales pour guider les politiques en matière de contrôle de l'usage des antibiotiques et pour élaborer des stratégies visant à combattre la résistance aux antimicrobiens.

1.2 Présentation de la de la région d'étude

Notre étude a été effectuée au Nord-ouest Algérien, il s'agit de wilaya d'Ain Témouchent. La wilaya d'Ain Témouchent occupe une position stratégique dans l'ouest de l'Algérie, issue du découpage territorial de 1984. Elle est située au nord-ouest de l'Algérie, à 520 km de la capitale Alger et s'étend sur une superficie de l'ordre de 2 376,89 Km². Elle est composée de 8 Daïras (Aïn El Arbaa, Ain Kihal, Aïn Témouchent, Beni Saf, El Amria, El Malah, Hammam Bou Hadjar, Oulhaça El Gheraba) et 28 communes. Elle est limitée : Au nord, par la mer Méditerranée et la wilaya d'Oran ; au sud, par les wilayas de Tlemcen et Sidi Bel Abbes ; à l'ouest, par la mer Méditerranée et la wilaya de Tlemcen et à l'est, par les wilayas d'Oran et Sidi Bel Abbes (figure 3).

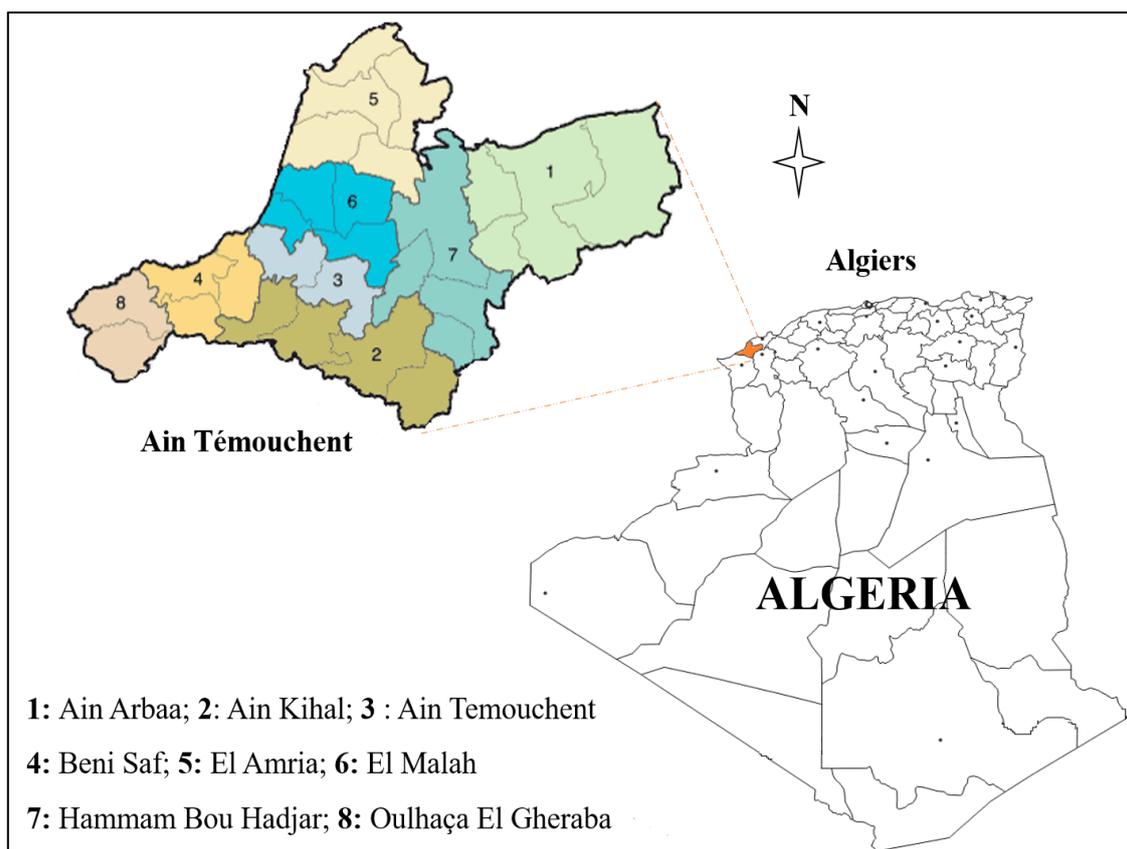


Figure 3: Carte géographique de la Wilaya d'Ain Témouchent (Gifex.com).

1.3 Prélèvements et analyse microbiologique

1.3.1 Prélèvement des échantillons de lait

Les échantillons de lait sont prélevés à partir des vaches de 4 diverses fermes laitiers d'Ain Témouchent. Le prélèvement de lait à partir des mamelles des vaches fait sous des conditions hygiéniques et des matériels stériles vêtements propres et appropriés, des gants jetables, pots stériles de 20ml,...etc. La mamelle de la vache a été méticuleusement nettoyée avec une solution désinfectante et essuyée, Une fois les premiers jets éliminés, le bouchon est retiré. Ainsi, les ouvertures du couple, du tube et du bouchon sont orientées vers le bas, ce qui permet d'éviter toute contamination. Dès que le trayon est saisi de la main droite, il est ramené en position latérale afin d'être traité presque horizontalement dans le flacon à prélèvement. Lorsque le lait gicle, il est placé en position oblique entre le pouce et l'index de la main gauche, avec un bouchon porté par l'index et le médus orienté vers le bas. Finalement, on rebouche le flacon et on a prélevés 52 échantillons.

Après le prélèvement, les échantillons ont été placés dans la glacière de 4° pour les conservés et transportés rapidement vers le laboratoire pour analyse (figure4).

Nous avons étiqueté chaque échantillon de manière claire et précise le lieu de prélèvement, le numéro d'identification de la vache.

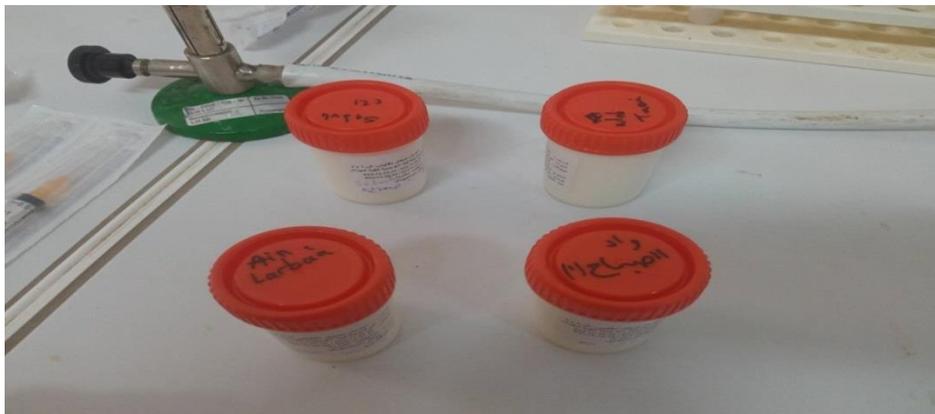


Figure 4: Echantillons du lait.

1.3.2 Analyse microbiologique

1.3.2.1 Enrichissement

Les milieux d'enrichissement permettent de favoriser une croissance bactérienne à partir des prélèvements. Il s'agit en général de milieux liquides riches permettant le développement d'un maximum de bactéries. Parmi les plus utilisés, on trouve le bouillon (BHIB) Brain-Heart Infusion Broth qui est un milieu nutritif tamponné, est utilisé pour la culture d'une très grande variété de microorganismes aérobies ou anaérobies, incluant levures et moisissures. Nous avons pris quelques millilitres de lait cru (2ml) à l'aide une seringue à usage unique dans des conditions aseptiques et nous l'avons met dans des tubes préalablement identifiés par le numéro de chaque vache et qui contiennent le bouillon BHIB (8ml), puis les tubes sont agité les tubes dans le vortex et incubés dans une étuve à 37°C pendant 24h (figure5).



Figure 5: Réalisation d'enrichissement

1.3.2.2 Ensemencement

Après 24h d'incubation des milieux d'enrichissement BHIB, nous avons prélevé à partir de chaque tube de milieu d'enrichissement un volume de 0,1 ml (Après homogénéisation au vortex pendant quelques secondes) de la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette graduée stérile, que l'on ensemence sur les géloses EMB et gélose MacKonkey. Les boîtes ensemencées, sont ensuite incubées à 37 °C.

1.3.3 Identifications des souches d'*Escherichia. Coli*

Plusieurs tests et examens seront réalisés pour ces souches obtenues sur la gélose MacConkey sélective dans le but de les identifier et détecter leurs caractérisations spécifiques en se basant sur les caractéristiques morphologiques et biochimiques.

1.3.3.1 Identification morphologique

1.3.3.1.1 Examen macroscopique

L'observation macroscopique fournit des indications initiales sur la taille, la forme et la couleur des colonies bactériennes, avec la possibilité d'orienter les résultats lors de l'identification d'après (**Joffin et Leyral, 2001**). En raison de la fermentation du lactose, les colonies d'*E. Coli* dans la gélose MacConkey sont de couleur rose, rondes et convexes, lisses et légèrement brillantes, et presque de taille moyenne.

1.3.3.1.2 Examen microscopique

L'examen microscopique implique l'utilisation d'un microscope pour observer les échantillons de manière plus détaillée, ce qui permet de voir la structure et les cellules ou bactéries individuellement. Cet examen comprend plusieurs d'autres examens, y compris sans coloration et après coloration, tels que : l'examen à l'état frais et la coloration de gram.

1.3.3.1.3 Examen direct à l'état frais

Le principe de cet examen est de mettre en évidence la présence des micro-organismes dans l'échantillon et leur mobilité. C'est une technique rapide et facile, permet de visualiser l'échantillon sous microscope sans aucune préparation, ni fixation ni coloration. Il permet alors d'observer les bactéries dans leur état naturel, sans altérer leur morphologie ou leur structure cellulaire. L'examen à l'état frais permet d'apprécier la mobilité du germe étudié. On dit d'une bactérie est mobile lorsqu'on voit au moins un élément bactérien traversant le

champ du microscope. Pour réaliser un examen à l'état frais, une goutte d'eau distillée stérile est déposée sur une lame propre. En moyen d'une anse de platine stérile, un frottis bactérien mince est préparé par prélèvement et étalement d'une faible quantité de la culture bactérienne. Le frottis est recouvert d'une lamelle. Généralement, les bords de la lamelle sont séchés avec du papier filtre stérile. On examine ensuite avec l'objectif 40, puis à l'immersion (x 100).

1.3.3.1.4 Test de coloration de gram

C'est une technique microbiologique fondamentale utilisée pour différencier les bactéries en deux groupes : Gram-positif et Gram-négatif sur la base des propriétés de la paroi cellulaire. Ce test a été réalisé de la manière suivante : Faire un frottis afin de fixer l'échantillon sur la lame. Cette dernière a été désinfectée à la flamme et à l'aide de pipette Pasteur stérile. Un fragment d'une colonie bactérienne a été prélevé et déposé et étalé sur la lame, qui va être séchée ensuite à la flamme, la coloration : une coloration primaire avec la solution violet de gentiane quelques gouttes sur le frottis, durant 1 minute (coloration du cytoplasme en violet), fixation de la coloration avec lugol après avoir retiré le violet et rincé avec l'eau distillé, quelques gouttes durant 20 secondes, le lugol a été éliminé après les 20 secondes et rincé avec l'eau distillé, la décoloration avec l'éthanol au-dessus de la frottis jusqu'à sa couleur incolore (5-10 sec), ensuite il a été rincé, la coloration secondaire (contre coloration) en déposant la solution fuchsine (rose) durant 1minute, finalement la frottis a été rincé et laissé sécher à l'air libre, et dernièrement l'observation : l'ajoute d'une goutte d'huile d'immersion au frottis et à l'observation au microscope avec grossissement 100x.

1.3.3.2 Identification biochimique

L'isolement et la différenciation sur milieux sélectifs ne permettent pas de confirmer immédiatement l'identification du genre. L'identification fiable et précise des bactéries nécessite, soit l'utilisation des Galeries API, soit des outils moléculaires. Les tests biochimiques jouent un rôle essentiel dans l'identification des micro-organismes, en permettant de caractériser leurs propriétés métaboliques et morphologiques distinctives. Ces tests sont utilisés pour différencier les bactéries en se basant sur divers critères tels que les voies métaboliques, le type respiratoire, les enzymes spécifiques, et la réaction à certains substrats. Différents tests biochimiques classiques ont été utilisés dans l'identification bactérienne, malheureusement, par manque de matériel et de milieux de culture, nous avons effectué uniquement les tests de galerie classique disponibles. Parmi ces tests :

✓ Test de catalase

Test de catalase est un test biochimique essentiel pour l'identification des micro-organismes en microbiologie. Il permet de déterminer si une bactérie produit l'enzyme catalase, il sert à neutraliser les effets bactéricides du peroxyde d'hydrogène. La catalase accélère la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et oxygène. Cette réaction est évidente par la formation rapide de bulles. La procédure consiste à impliquer les étapes suivantes : une goutte d'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) a été déposée sur la lame à l'aide d'une pipette Pasteur, Puis prélèvement d'une colonie bactérienne à l'aide d'une anse, Ensuite dissociation de la colonie dans la goutte d'eau oxygénée, Ainsi, l'observation de la formation de bulles d'oxygène : si des bulles se forment, la bactérie est catalase positive (Catalase +), et si aucune bulle n'apparaît, la bactérie est catalase négative (Catalase -)

✓ Test oxydase

Le test oxydase est un outil de diagnostic utilisé pour détecter la présence de l'enzyme cytochrome oxydase dans les micro-organismes. Initialement développé pour différencier diverses espèces (**Ruan Benfang et Ruan Jiannifu ,2017**). Les Disques Oxydase (OX) sont des disques de papier absorbant imprégnés de N, N, N', N'-Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride. En présence de cytochrome oxydase, le N,N,N',N'-Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride (incolore) forme un composé coloré en bleu. La procédure consiste de placer un disque d'oxydase sur une lame porte objet à l'aide de pinces , puis choisir une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester, En suite prélever la colonie choisie à l'aide d'une anse de platine , après frotter doucement la colonie sur le disque et observer l'apparition d'une coloration violette dans un délai de 30 secondes.

✓ Test de TSI (triple sugar iron)

Le métabolisme glucidique des bactéries renferme plusieurs tests, parmi ces tests, le test TSI. Il s'agit d'un test biochimique utilisé pour l'identification des bactéries à coloration Gram⁻. Le test de TSI est réalisé en utilisant un milieu de culture solide contenant trois sucres : glucose, saccharose et lactose. Ce test permet de détecter la production de gaz et la production du soufre d'hydrogène (production H_2S = noircissement du milieu sur une zone). Les colonies à tester sont inoculées dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile, en utilisant une anse de platine stérile. A l'aide d'une anse stérile on prélève un échantillon d'inoculum et on ensemence la surface abondamment (stries bien serrés) du milieu TSI, puis

le culot par piqure centrale. Les tubes sont incubés pendant 24 heures à 37°C. Après incubation, la lecture des résultats de ce test se fait par l'observation des changements de couleur du milieu, la production de gaz et la formation de précipités dans le milieu de culture.

Après le délai d'incubation, les modifications de milieu se traduisent de la façon suivante :

- ✓ Culture glucose positive : culot jaune (glucose fermenté).
- ✓ Culture glucose négative : culot inchangé.
- ✓ Culture lactose positive : pente virant au jaune
- ✓ Culture lactose négative : pente alcalinisée (rouge groseille).
- ✓ Culture saccharose positive : pente virant au jaune.
- ✓ Culture saccharose négative : pente alcalinisée.
- ✓ Culture H₂S positive : noircissement du milieu dans la zone joignant la pente et le culot. Production de gaz : bulle d'air, des bulles dans la masse du milieu ou contre les parois ou poche gazeuses décollant le culot.
- ✓ **Test de citrate de Simmons**

La gélose citrate de Simmons est un milieu de culture coulé en tube est utilisé pour la différenciation des bactéries gram-négatives sur la base de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone, on ensemence le milieu par des stries longitudinales, réalisées à l'anse de platine, à partir d'une suspension bactérienne. Ne pas visser le bouchon à fond afin de permettre les échanges gazeux. L'incubation 37°C pendant 24h. La lecture se fait comme suit : Virage de l'indicateur de pH en bleu : il y a eu une alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons (+). Pas de virage de l'indicateur de pH : il n'y a pas une alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture. La souche est citrate de Simmons (-).

✓ **Test d'Urée-Indole**

Le milieu urée-indole ou urée-tryptophane est un milieu synthétique complexe fournissant un ensemble de résultats utiles à l'identification des entérobactéries. Ce milieu contient de l'urée comme seule source de carbone. Elle permet la recherche de trois activités enzymatiques : L'uréase, le tryptophane désaminase (TDA), et la production d'indole grâce à une tryptophanase. L'ensemencement est fait directement le tube urée-indole. Incubation 37°C pendant 24h. La lecture se fait comme suit :

Recherche de l'uréase Les entérobactéries capables de dégrader l'urée qui est un composé organique et qui peut servir de source d'azote unique aux bactéries possédant une uréase. Lorsque le milieu est rouge (basique) : uréase (+), lorsqu'il est orange ou jaune uréase (-).

Recherche de l'indole : Certaines bactéries dégradant le tryptophane grâce à une tryptophanase en formant de l'indole, de l'acide pyruvique et de l'ammoniaque dans le milieu restant, ajouter trois gouttes de réactif de Kovacs. Anneau rouge : indole (+) Milieu jaune : indole (-)

1.3.3.3 Antibiogramme des souches *E. Coli*

Afin de déterminer la sensibilité d'*E. Coli* vis-à-vis de divers antibiotiques, on utilise l'antibiogramme par diffusion sur gélose Muller Hinton (méthode des disques) adoptée à l'étude de l'action des antibiotiques sur la croissance des bactéries. La procédure de la réalisation de l'antibiogramme a consisté à préparer l'inoculum bactérien, et à l'ensemencer sur le milieu adéquat qui doit être coulé en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4 mm et les boîtes gélosées doivent être séchées avant l'emploi. Puis à appliquer les disques d'antibiotiques et à incuber les boîtes de pétri et après à lire et interprétation des résultats obtenus.

✓ Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur le milieu d'isolement approprié, prélever à l'aide d'une anse de platine ou une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et bien déchargées l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%, et homogénéiser bien la suspension bactérienne pour l'obtention d'une turbidité à l'échelle 0.5 de MacFarland équivalent à une concentration bactérienne d'environ 10⁶ UFC/ml.

✓ Ensemencement, application des disques et incubation

À l'aide d'un écouvillon stérile prélève une colonie à partir de l'inoculum bactérien puis l'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum, puis ensemencer sur toute la surface de la gélose Muller-Hinton en stries serrées en pivotant chaque fois la boîte. Répéter l'opération 2 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de gélose, pour chaque souche on ensemence deux boîtes de pétri. Il faut recharger l'écouvillon à chaque fois, on réalise

l'application des disques d'ATB s sur la gélose à l'aide d'une pince bactériologie stérile. Deux disques sont éloignés au minimum 30mm de sorte à éviter des chevauchement des zones d'inhibition, pour obtenir une pré- diffusion des ATB à partir de leur disques, il est préférable de laisser les boites sur la palliasse pendant 15 min au température ambiante, les boitesensemencées sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h.

✓ **Lecture et Interprétation des résultats**

La mesure des diamètres d'inhibition est réalisée à l'aide d'un pied à coulisse. Les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée. Les valeurs des diamètres d'inhibition obtenues ont permis de classer les souches en : Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistant (R) conformément aux recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**EUCAST/ CA-SFM, 2016**). Les souches à résistance intermédiaire (I) ont été catégorisées souches résistantes.



RESULTATS ET DISCUSSION

1 Résultats

1.1 Prévalence des souches d'*E. Coli* isolées du lait de vache

Notre étude porte sur l'analyse des échantillons de lait cru des vaches, dans le but d'étudier la présence des souches d'*E. Coli*. Parmi les 52 échantillons de lait prélevés ont été analysés avec des examens bactériologique, y compris la coloration de gram, test de catalase, test d'oxydase. Parmi tous les germes qu'on a trouvé les souches d'*E. Coli* représentent 26,92% d'entre eux. Et ce pourcentage ne doit pas être sous-estimé (figure6).

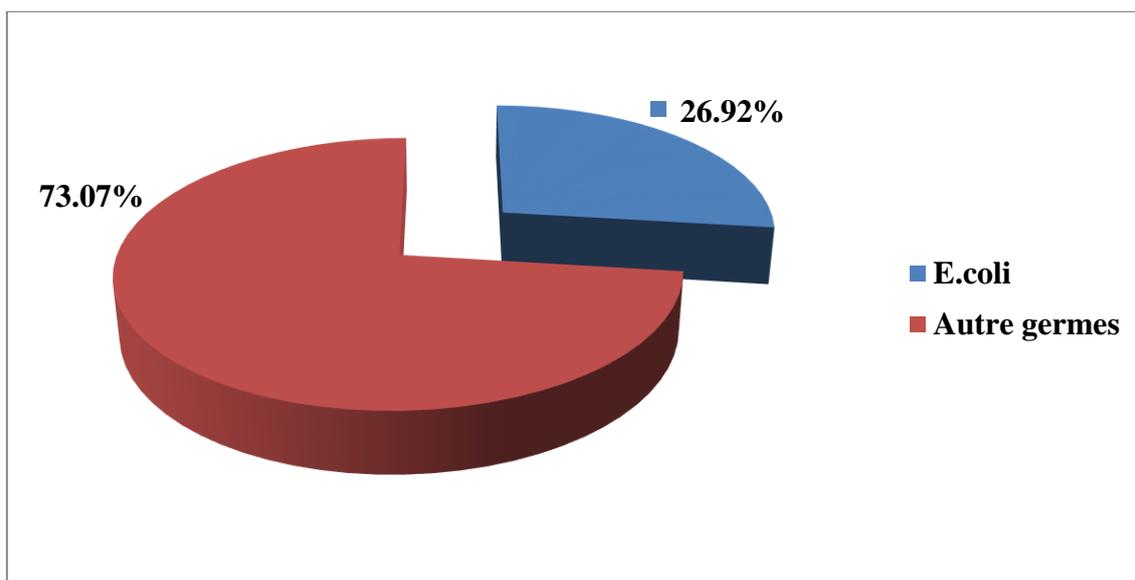


Figure 6: Prévalence d'*Escherichia coli* isolées du lait cru de vaches

1) Observation macroscopique

Les résultats obtenus après 24h d'incubation à 37°C sur milieu MacConkey ont montré que les colonies apparaissent en colonies de couleur rose opaque, Il s'agit de cristaux de violet de gentiane, un indicateur de pH, qui change de couleur en rose en présence de bactéries fermentant le lactose, en forme rondes avec une surface lisse et brillant, consistance crémeuse et une taille moyenne.

2) Observation microscopique

✓ Coloration de Gram

Après la réalisation de coloration de gram l'*E. Coli* apparait sous le microscope optique des bacilles colorés en rose regroupées en amas ou isolées ou bien en petite chênnettes. Et cela dû au fait qu'elle est Gram négatif (figure7).

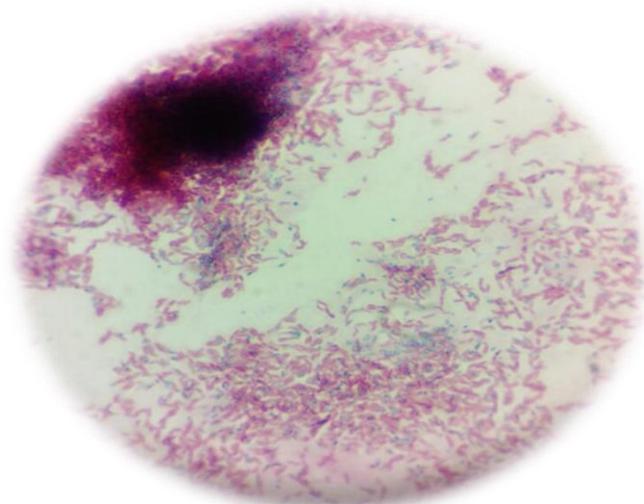


Figure 7: image microscopique d'*E. Coli* après la coloration de gram.

3) Identification biochimique

✓ Test de catalase

D'après les résultats obtenus ce test est positif (+), car une réaction a été observée, qui est l'apparition instantanée de bulles résultant de l'accélération de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (figure8).



Figure 8: Résultat de test de catalase.

✓ Test d'oxydase

L'E. Coli est connue pour être oxydase négative, et c'est ce que nous a confirmé ce test, puisqu'aucune réaction ni changement de couleur du disque ne s'est produit.

✓ **Test TSI**

Nous avons constaté dans ce milieu coulé en pente 4 caractères :

- La fermentation du lactose sur la pente qui se traduit par virage au jaune.
- La fermentation du saccharose également qui se matérialise par virage au jaune.
- La présence de gaz qui se manifeste par le décollement du culot et/ou la présence de bulles d'air.
- La production de H₂S qui se traduit par une coloration noire.

Les souches *d'E. Coli* ont fermenté le lactose ainsi que le saccharose, elles produisent du gaz mais pas du sulfure d'hydrogène H₂S.

✓ **Test urée- indole**

Recherche d'uréase :

Les souches *E. Coli* sont uréase positives (+). Le milieu a changé du jaune à rose.

Recherche d'indole :

Les souches *E. Coli* sont indole positive (+). La présence d'indole se manifeste par l'apparition d'une coloration rouge à la surface de milieu après l'addition du réactif du kovacs.

✓ **Test citrate de Simmons**

Les souches *d'E. Coli* Sont citrate négative parce qu'elles n'utilisent pas le citrate comme seule source de carbone. Par conséquent, le milieu Citrate de Simmons ne change pas de couleur et reste vert.

Tableau 7: Résultats des Tests TSI, Urée-Indole, Citrate de Simmons

Test	TSI	Urée-Indole		Citrate de Simmons
Résultat	+	+	+	-



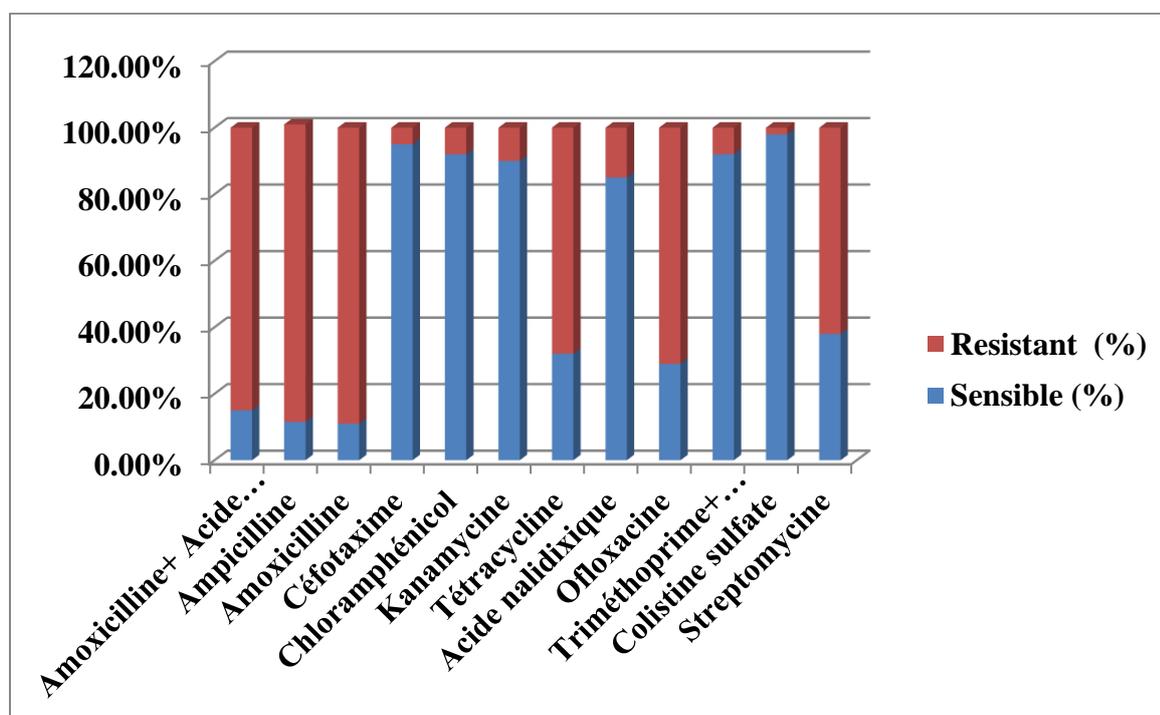
Figure 9: Images des résultats de gélose des tests TSI, Urée-Indole, Citrate de Simmons.

1.2 Résultats d'antibiogramme

Afin de déterminer la sensibilité des souches d'*E. Coli* ces résultats d'antibiogramme qui ont été obtenues vis-à-vis 12 antibiotiques, Cette étude nous a révélé que l'*E. Coli* a une très haute résistance contre ces 06 d'entre 12 antibiotiques, on a l'Ampicilline avec le plus grand pourcentage de résistance (89,50%), l'Amoxicilline (89%), l'Amoxicilline + l'Acide clavulanique (85%), après l'Oflaxine (71%) et le Tétracycline (68%) ainsi que le Streptomycine (62%). Et concernant les antibiotiques auxquels cette souche est sensible on a les 06 restes avec très haute sensibilité se sont le Colistine sulfate (98%), Céfotaxime et Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole qui partagent le même pourcentage de sensibilité du (95%), Chloramphénicol (92%), Kanamycine (90%), et dernièrement l'Acide nalidixique (85%) (Tableau 8 et figure 10).

Tableau 8: Profil de sensibilité des *E. coli* vis à vis de 12 antibiotiques

Antibiotiques	Charge du disque	Sensible (%)	Résistant (%)
Amoxicilline+ Acide clavulanique	20/10 µg	15,00%	85,00%
Ampicilline	10 µg	11,50%	89,50%
Amoxicilline	30 µg	11,00%	89,00%
Céfotaxime	30 µg	95,00%	5,00%
Chloramphénicol	30 µg	92,00%	8,00%
Kanamycine	30 µg	90,00%	10,00%
Tétracycline	30 µg	32,00%	68,00%
Acide nalidixique	30 µg	85,00%	15,00%
Ofloxacine	5 µg	29,00%	71,00%
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	25 µg	98,00%	2,00%
Colistine sulfate	10 µg	98,00%	2,00%
Streptomycine	10 µg	38,00%	62,00%

**Figure 10: Profil de sensibilité des *E. coli* vis à vis de 12 antibiotiques**

2 Discussion

Notre étude explore la prévalence et l'antibiorésistance des souches *d'E. Coli* isolées du lait cru de vache. La prévalence *d'E. Coli* dans le lait cru de vache varie d'une étude à une autre. Dans notre étude, sur les 52 prélèvements de lait, un pourcentage de 26.92% d *d'E. Coli* a été observé. A la lumière des résultats obtenus, la fréquence de contamination des échantillons du lait par *E. Coli* dans les élevages est supérieure à celle enregistrée par divers auteurs dans le monde. Par exemple, une prévalence de 6,5 % a été trouvée en Jordanie (**Ismail et Abutarbush, 2020**), 10 % au Mexique (**Olivares-Pérez et al., 2015**), 11,1 % en Chine (**Yu et al., 2020**), 15,5 % en Belgique (**Verbeke et al., 2014**) et 7 % en Égypte (**Ameen et al., 2019**), en Arabie saoudite (12.1%) (**Ayman et al., 2021**). Cependant, la prévalence d'*E. Coli* dans notre étude était approximativement proche de la prévalence trouvée dans des autres études récentes en Algérie (**26% et 26.9%**) (**Tahar et al., 2020 ; Ghallache et al., 2021**) ou une étude en Éthiopie (27,3%) (**Haftu et al., 2012**). Finalement, nos résultats sont inférieurs à la prévalence constatée en Inde qui était de 81,1 % (**Bhoomika et al., 2016**), 75 % au Bangladesh (**Islam et al., 2016**) et 34.4 % dans le nord de la Chine (**Liu et al., 2021**), en Tunisie (31,7%) (**Saidani et al., 2018**), au Népal (38.5%) (**Bhandari et al., 2021**) et en Arabie Saoudite (35.8%) (**Md.Abdus Sattar Baget et al., 2021**).

La variabilité de la prévalence observée dans les diverses études pourrait être due aux grandes variations qui existent entre régions, entre troupeaux au sein d'une même région, et même pour un troupeau donné à différents moments. Ainsi, la fréquence d'*E. Coli* dans notre étude peut être due aux conditions de propreté de l'animal (arrière train et mamelles souillés). Ce germe est plutôt à l'origine de mammites cliniques et subcliniques. Le mauvais entretien de la litière, mauvaises pratiques d'hygiène lors de la traite des vaches ou la manipulation du lait, manque de nettoyage des trayons, la mauvaise hygiène de la stabulation et des animaux en général pourrait expliquer la fréquence élevée d'*E. Coli* isolé dans cette étude. En plus, D'après Magnusson et ses collaborateurs (2007), les litières fortement souillées contiennent plus de coliformes et la prévalence de mammites, dans ce cas, augmente, suggérant une contamination des trayons et du lait plus importante.

La généralisation de l'antibiothérapie a produit des résultats spectaculaires sur le traitement des infections mammaires. Mais elle a un corollaire fâcheux, l'antibiorésistance des germes. Plusieurs études ont été menées dans différentes régions (**Saidani et al., 2018, Pontrel et al., 2018 ; Boireau et al., 2018 ; Cheng et al., 2019, Yu., 2020 ; Sedrati et al., 2020**) ont consisté à déterminer la fréquence et le profil de résistance des souches *d'E. Coli*

isolées des mammites bovines à l'encontre de différentes familles d'antibiotiques. Les résultats obtenus sont inquiétants et indiquent l'émergence et la dissémination des souches dites « multi-résistantes » à grande échelle. Un autre objectif visé par cette étude est la caractérisation du profil de résistance des souches d'*E. Coli* isolées, vis-à-vis de certaines molécules d'antibiotiques utilisées en thérapeutique humaine et vétérinaire. Les résultats révèlent une variabilité importante de la résistance aux différents antibiotiques testés. Plusieurs chercheurs sont d'accord sur le fait que l'emploi des antibiotiques chez l'animal en tant qu'agents thérapeutiques, prophylactiques ou facteur de croissance peut entraîner une diminution de l'efficacité de ces produits en médecine vétérinaire comme en médecine humaine, en raison de la croissance des souches résistantes.

L'ampicilline, antibiotique considéré comme à large spectre, les souches d'*E. Coli* ont montré une résistance très élevée vis-à-vis de l'Ampicilline à hauteur de (89.50%). Cette proportion est à mettre dans la fourchette très large des résistances observées dans différentes études. En effet, le taux obtenu dans cette étude est proches à ceux qui ont été signalées dans différents pays par, **Saini et al (2012)** au Canada (98,4%), **Fazel et al (2019)** en Iran (66,19%), **Locatelli et al (2019)** en Italie (66.6%) et **Ghallache et al (2021)** en Algérie (58.8 %). Cependant, le taux de résistance obtenu dans notre étude est nettement supérieure par rapport aux résultats obtenus par **Poutrel et al (2018)** en France, **Chehabi et al (2019)** au Danemark, **Nuesch-Inderbinet al (2019)** en Suisse, **Ameen et al (2019)** en Egypte, **Faruk Siddiki et al (2019)** en Bangladesh et **Yu et al (2020)** en Chine, qui ont rapporté des taux de, 2.5 ; 11.3 ; 22 ; 33.3 ; 30 et 30.1% respectivement.

Une résistance de (89%) à l'Amoxicilline et de (85%) à l'Amoxicilline + Acide clavulanique, nos résultats de taux de résistance est un peu élevé à celui trouvé au Maroc (80%) au Amoxicilline et (74%) au Amoxicilline + Acide clavulanique par **Yassine et al ., (2020)**. Les bêta-lactamines constituent avec les fluoroquinolones les familles des antibiotiques qui ont une importance critique en médecine vétérinaire (**Sanders et al., 2017**). Nos résultats sont conforme aux conclusions des études précédentes, menées en Algérie ainsi que dans d'autres pays, ont rapporté des résistances élevée aux bêta-lactamines chez les souches de *E. coli* (**Saidi et al., 2014 ; Ameen et al., 2019 ; Sedrati et al 2021**). Cependant, des taux de résistance à amoxicilline plus faibles ont été rapportés par **Ameen et al (2019)** (33 %), **Tark et al (2017)** (22,1 %) et **Nüesch-Inderbinen et al (2019)** (22 %). Les forts pourcentages de résistances obtenus dans notre étude vis-à-vis de l'ampicilline, l'amoxicilline et l'association amoxicilline+acide clavulanique sont dus à l'utilisation abusive et anarchique

de ces molécules par les vétérinaires, et aussi à leur large disponibilité sur le marché algérien, avec des prix abordables.

Les tétracyclines représentent les plus anciennes molécules utilisées, autant en thérapie que préventivement, engendrant des résistances très élevées. En effet, Les tétracyclines montrent un taux de résistance de 68% des souches *d'E. Coli*. Plusieurs auteurs de pays différents ont trouvé des résultats très élevés de résistance de *E. coli* à cet antibiotique avec des fréquences de résistance allant jusqu'à (90,4%) (**Hammoudi et Aggad, 2008 ; Messai et al. 2016**). Nos résultats rejoignent à celui trouvé en Sénégal (75.9%) par **Jacques et al (2005)**, **Sedrati et al (2020)** à l'est de l'Algérie (75%) et **Boireau et al.,(2017)** en France (73.2%). Par contre, nos résultats sont largement supérieurs par rapport à ceux obtenu par **Cheng et al (2018)** en Chine, **Nuesch-Inderbinen et al (2019)** en Suisse, **Chehabi et al (2019)** au Danemark, **Fazel et al (2019)** en Iran, où les taux de résistance sont 10, 14.6, 11.3 et 49.2% respectivement.

La famille des Tétracyclines est la plus consommée en thérapeutique chez l'animal (**Faye, 2005**). Depuis leur découverte dans les années quarante, cette famille a été utilisées dans la prévention et le traitement des maladies infectieuses, mais elle est employé encore comme promoteurs de croissance. Ces larges applications ont conduit à l'émergence tout aussi rapide des souches bactériennes résistantes à cette famille d'antibiotique (**Chopra et al, 2001, Michalova et al, 2004**).

La résistance à l'Ofloxacin est de (71%), et au Streptomycine (62%) les résultats que nous obtenons sont très différents des résultats obtenus en chine (4.8%) et (13%) par **Yuet al, 2019**). Le taux de résistance à l'ofloxacin chez *E. Coli* est plus élevé en Algérie qu'en Chine. Cela peut être dû à plusieurs facteurs, notamment une utilisation plus importante d'ofloxacin en Algérie et des pratiques de contrôle des infections moins strictes. L'origine de la multi résistance observée chez les souches *d'E. Coli* serait probablement lié à l'utilisation anarchique des antibiotiques et l'acquisition de certaines souches des gènes de résistance.

La sensibilité des souches *E. Coli* vis-à-vis de la colistine a été testée, une sensibilité très élevée (98%) a été enregistré. Des taux proche aux nôtres sont rapportés dans les études de **Bendella et al (2020)** et **Ghallache et al (2021)** avec des taux de 84 et 87% respectivement. Cependant, des taux similaires aux nôtres sont rapportés dans les études de **Sedrati et al (2020)** en Algérie et **Chehabi et al (2019)** au Danemark où ils ont enregistré des taux de sensibilité de l'ordre de 100%. La colistine est connue pour être efficace sur *E. Coli*.

Ce faible taux de résistance peut être expliqué par l'utilisation modérée et réfléchi de cette molécule comme traitement et généralement en association avec d'autre molécule comme ampicilline. D'autre part, les résistances des bactéries Gram négatif sont rares vis-à-vis de la colistine, voire exceptionnelles, et sont de type chromosomique comme rapporté par **Garnacho-Montero et al. (2003)**

Dans cette étude, les résultats obtenus ont montré une sensibilité très élevée vis-à-vis la Triméthoprime + Sulfaméthozole (98%), Chloramphénicol (92%) et 95% pour Céfotaxime. La faible résistance pourrait s'expliquer par son efficacité et par la faible utilisation de ces antibiotiques en raison de leur prix élevé par rapport à de nombreux autres agents. Nos résultats sont proches de ceux obtenus par **Gaffaf et al (2008)** à Tebessa.

La Colistine Sulfate et Triméthoprime + Sulfaméthozole ont une excellente activité car les souches y sont sensible à (98%), (98.48%), en accord avec le résultat de **Meskine et Benabdelkader (2016)** en Constantine qui ont obtenus un résultat similaire et même au Bangladesh dans le cas d'*E. coli*, (100%) des isolats ont montré une sensibilité contre le Triméthoprime-sulfaméthozole (**Tasnim, 2015**) et proche de l'étude de (**Diriba Taddese, 2020**) en Ethiopie qui a démontré la sensibilité à Chloramphénicol à (100%).

En ce qui concerne la résistance à la céfotaxime, nos résultats ont montré que les souches d'*E. Coli* restent encore largement sensibles aux céfotaxime. Nos résultats sont proches à ceux rapportés en Chine par **Yu et al (2020)** qui est de 18,1 %. La fréquence obtenue dans cette étude est similaire de celle rapportée par **Ombarak et al (2018)** qui est de 4,5%.

On a obtenus aussi que les souches d' *E .coli* étaient sensibles à (90%) à la Kanamycine, une étude aux états unis par **Srinivasan et al (2007)** et en Egypte par **Rabee.A 2016 et al (2016)** rapportait des résultats que la plupart des *E .coli* (91%) (100%) étaient sensible à la Kanamycine. Des taux de résistance proche à ceux observés dans notre étude ont été rapportés par **Yu et al (2020)** en Chine, en Égypte (**Ombarak et al., 2018**), en France (**Botrel et al., 2010**). Où les taux de résistance à la Kanamycine étaient respectivement de 2,8 %, 4,1 % et 6 %. Des taux élevés ont par contre été observés en Algérie par **Ghallache et al (2021)** avec 31.9%.

Dans cette étude, les souches d'*E. Coli* isolées de lait cru sont généralement sensibles à l'acide Nalidixique à 85% (un antibiotique de la famille des quinolones). Nos résultats sont semblables à ceux enregistrés par **Saidani et al. (2018)** en Tunisie, **Poutrel et al (2018)** en France, **Chehabi et al (2019)** au Danemark et **Bendella et al (2020)** en Algérie, où ils ont enregistré des taux de (86.4%), (78.4%) et (72.8%) respectivement.



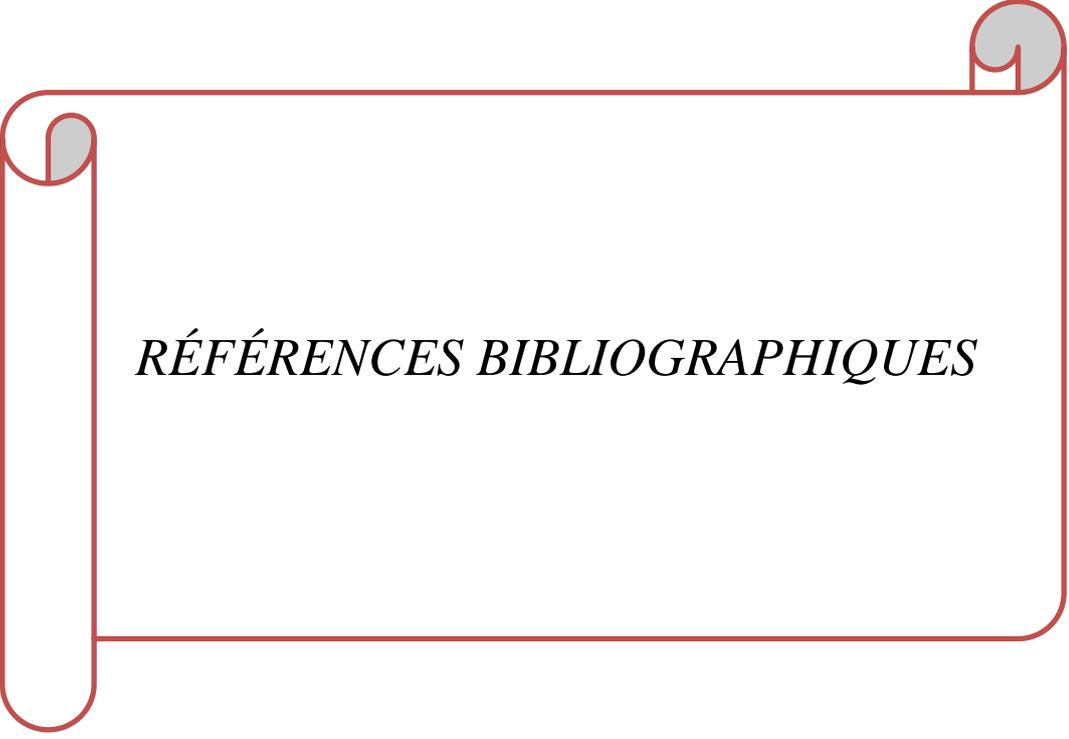
***CONCLUSIONS ET
RECOMMANDATIONS***

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Les souches *d'E. Coli* sont parmi les entérobactéries qui viennent en tête des germes d'environnement qui font actuellement des contaminations dans le lait cru de vache. Les objectifs fondamentaux qui ont été atteints à travers cette étude sont l'évaluation de la prévalence des souches *d'E. Coli* isolées à partir du lait cru de vache et l'analyse de ses profils de résistance à un ensemble d'antibiotiques. A la lumière des résultats dans notre étude sur le lait cru dans la région d'Ain Témouchent, il s'avère que les souches *d'E. Coli* se retrouve à une fréquence de près de 27 % dans le lait cru ce qui menace la qualité du produit et donc entraîne des maladies graves aux consommateurs, en particulier chez les jeunes enfants, les femmes enceintes, les personnes âgées et les personnes immunodéprimées.

La surveillance et le contrôle de l'antibiorésistance des souches *d'E. Coli* dans le lait cru sont essentiels pour garantir la sécurité alimentaire. De plus, la résistance aux antibiotiques *d'E. Coli* dans le lait cru peuvent avoir des répercussions importantes sur la santé publique, Notre étude a révélé un taux élevé de résistance aux antibiotiques couramment utilisés notamment l'Ampicilline et l'Amoxicilline de la famille β -Lactamine qui sont dans nos résultats étaient représentés par (89.50%) et (89%), ainsi que l'association d'Amoxicilline+ Acide clavulanique (85%), l'ofloxacine de famille des Fluoroquinolones avec (71%) de résistance, le Tétracycline (68%) et dernièrement le Stréptomycine (62%). Du point de vue de la sensibilité, des sensibilités très élevées ont été révélés à la colistine sulfate, la kanamycine, la triméthoprim + sulfaméthoxazole, chloramphénicol et la Céfotaxime, avec des valeurs de 98%, 90%, 98%, 92% et 95%, respectivement.

Ces régions devraient prendre en compte les pratiques d'hygiène strictes lors de la traite et de la manipulation du lait et les producteurs de lait cru doivent être éduqués sur les risques de contamination du lait par *E. Coli* et sur les moyens de les réduire et pourquoi pas mettre en place des programmes de surveillance de la prévalence et de l'antibiorésistance des souches bactériennes dans le lait cru. Et donc il conviendrait d'agir pour sensibiliser à l'utilisation appropriée de ces médicaments afin d'assurer un traitement ou bien de restreindre l'usage des antibiotiques dans l'élevage. Cette étude ouvre la voie à de nouvelles recherches sur la prévalence et l'antibiorésistance *d'E. Coli* dans le lait cru, des recherches continues afin de protéger la santé publique, Amélioration de la sécurité alimentaire et développer des stratégies de prévention et de contrôle. Enfin, dans la perspective du concept *One Health*, Les efforts pour lutter contre l'antibiorésistance doivent donc être menés de concert, tant en médecine humaine que vétérinaire.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aboutayeb R., (2009).** Technologie du lait et dérivés laitiers <http://www.azaquar.com>.
- Alekshun,M.N., Levy ,S.B., (2007).** Molecular mechanisms of antibacterial multidrugresistance. Cell 128, 1037-1050.
- Alves, H. C., Cruz, F. de P. N., de Assis, P. C. P., Pessoa, J. D. C., Trevelin, L. C., Leal, A. M. de O., & de Sousa, C. P. (Eds.). (2020).** *Escherichia coli (E. coli)*. Resistance against Last Resort Antibiotics and Novel Approaches to Combat Antibiotic Resistance.
- Ameen F, Reda SA, El-Shatoury SA, Riad EM, Enany ME, Alarfaj AA., (2019).** Prevalence of antibiotic-resistant mastitis pathogens in dairy cows in Egypt and potential biological control agents produced from plant endophyticactinobacteria Saudi Journal of Biological Sciences, 26:1492–1498.
- Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R Et Turgeon H., (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait In VIGNOLA C.L, Science et technologie du lait – Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages).
- Arquembourg J., (2016),** L’antibiorésistance en France, du risque à la menace pour la santé publique, OpenEdition Journals, *Questions de communication*, 29, 29-47.
- Avril J.L., Denis F., Dabernat H., Monteil H. (2000).** Bacteriologie clinique.2éme édition Marketing, paris. Pages 148-280.
- Ayman S. Mubarak, Hanan D. Alshammari, Dalia Al-Sarar, Roua A. Alsubki , Hassan A. Hemeg, Saleh A. Kabli, Osama A. Attala., (2021).** Multidrug-resistant *Escherichia coli* in Raw Milk: Molecular Characterization and the potential impact of camel’s Urine as an Antibacterial Agent. Saudi Journal of Biological Sciences 28 :2091–2097
- Bendella A.N.E.H., Ghazi, K., Meliani, S., (2020).** *Escherichia coli* and Staphylococcus aureus responsible for bovine mastitis sensitivity to the essential oil of Algerian *Thymus fontanesii* Boiss. etReut.ASN, Vol. 7, No 1, Pages 26–32.
- Berthelot, V., (2018).** Alimentation Des Animaux Et Qualité De Leurs Produits. Editions TEC & DOC. Agriculture d’Aujourd’hui, Lavoisier. Paris.
- Bevilaqua S., (2011).** Évaluation de l’impact d’une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy. Thèse doctorat
- Bhandari Suman, Deepak Subedi, Bibas Bahadur Tiwari, Prajjwal Shrestha, Shambhu Shah, and Ahmad I. Al-Mustapha., (2021) :** Prevalence and risk factors for multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from subclinical mastitis in the western Chitwan region of Nepal. J. Dairy Sci. 104:12765–12772
Ayman Elbehiry,a,b, Eman Marzoukb, Ihab M. Moussac,d, AfrahAlenzie, Khalid S. Al-Maaryc

- Bhoomika, Sanjay, S., Anil, P., and Eknath, G. N., (2016).** Occurrence and characteristics of extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* in foods of animal origin and human clinical samples in Chhattisgarh, India. *Vet. World* 9, 996–1000.
- Bidet, P et Bingen, E., (2011).** *Bactériologie Médicale*. Elsevier Masson SAS : 2ème édition 331-427 p.
- Birhanu M, Leta S, Mamo G, Tesfaye S., 2017.** Prevalence of bovine subclinical mastitis and isolation of its major causes in Bishoftu Town, Ethiopia *BMC Res Notes*, 10(1), 767.
- Boireau C.E., Morignat G., Cazeau, N., Jarrige E., Jouy, M. Haenni J.-Y., Madec A., Leblond and E. Gay., (2018).** Antimicrobial resistance trends in *Escherichia coli* isolated from diseased foodproducing animals in France: A 14-year period time-series study. *Zoonoses Public Health* 65:86–94.
- Bousbia, I., Boudalia, S., Gueroui, Y., Belaize, B., Meguelati, S., Amrouchi, M., Ghebache, R., Belkheir, B. et Benidir, M., (2018).** Nutritional and hygienic quality of raw milk intended for consumption in the region of Guelma, Algeria. *Asian J. Dairy & Food Res*, DR-123[1-5].
- Bradley, A. 2002.** Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet. J.* 164(2):116-128.
- Brulé, G., Jeantet, R. et Croguennec, T., (2008).** *Fondement physicochimique de la technologie laitière*. Rennes, Lavoisier, 160p.
- Chehabi C.N., Nonnemann B., Astrup L.B., Farre M., and Pedersen, K.,(2018).** In vitro Antimicrobial Resistance of Causative Agentsto Clinical Mastitis in Danish Dairy Cows. *Mary Ann Liebert, Inc.* DOI: 10.1089/fpd.2018.2560.
- Cheng J., Qu, W., Barkema H.W., Nobrega D.B., Gao J., Gang Liu De Buck J., Kastelic J.P., Sun H., and Han B., (2019).**Antimicrobial resistance profiles of 5 common bovine mastitis pathogens in large Chinese dairy herds. *J Dairy Sci*102:2416-26.
- Chopra I., Roberts M., (2001).** Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 65(2), 232-260.
- Christine M., (2015)** journal article: La gérance des antibiotiques : un rôle important du domaine de la pharmacie ? " *Canadian Journal of Hospital Pharmacy*, 68(6).
- Claeys, W. L., Cardoen, S., Daube, G., De Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., De Zutter, L., Huyghebaert, A., Imberechts, H., & Thiange, P.,(2013).** Raw or heated cow milk consumption: review of risks and benefits. *Food Control*, 31(1): 251-262.
- Cristian Carip et Al., (2008).** *Microbiologie hygiène-bases microbiologiques de la diététique*. Page 76.
- Cuq J., (2007).***Microbiologie Alimentaire*, Edition Sciences et Techniques du Langue doc, Université de Montpellier, 25p.
- Deforges J, Derens E, Rosset R Et Serrand M., (1999).** *Maitrise de la chaine du froid des produits laitiers réfrigérés*. Edition Cemagref. Tec et Doc, Paris.

- Diriba Taddese., (2020).** Isolation and antimicrobial susceptibility pattern of *Escherichia Coli* from milk of cow in Jimma Town, Ethiopia, jima university college of agriculture and veterinary medicine, p 6-7.
- Du D, Wang Z, James NR, et al., (2014).** Structure of the AcrAB-TolC multidrug efflux pump. *Nature*; 509 : 512–515.
- Ennuyer, M. et Laumonnier, G., (2013).** VADE-MECUM de gestion de l'élevage bovin laitier Editions MED'COM, Paris, 478p.
- Fao., (2017).** Le lait et produits laitiers. La composition du lait.
- Faruk siddiki, S. H. M., Samad, M.A., Saha¹, Badiuzzaman, M. and m. T. Islam, M.T., (2019).** comparison of bacterial pathogens associated with different types of bovine mastitis and their antibiotic resistance Status in bangladesh/ *j. Vet. Med. Oh res.* 1 (1): 17-27.
- Faye K., (2005).** Le point sur l'usage vétérinaire des antibiotiques: impact sur l'antibiorésistance des bactéries en santé animale et humaine. *Antibiotiques*, 7(1), 45-52.
- Fazela,F., Jamshidib,A., Khoramiana, B., (2019).** Phenotypic and genotypic study on antimicrobial resistance patterns of *E. coli* isolates from bovine mastitis. *Microbial Pathogenesis* 132 355–361.
- Fredot, E. (2006)** Connaissance des aliments-bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier : 25 : 397 pp
- Gaffaf Hadjer., Ghrieb Mahd., (2017).** Prévalence et Anti bio-résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées du lait cru memoire de master, Université de Larbi Tébessa-Tébessa, p30.
- Génard S., (2013),** thèse doctorat ; fonction et dysfonction des systemes d'efflux actif chez les souches cliniques de *pseudomonas aeruginosa*
- Ghallache Loubna, Abdellah Mohamed-Cherif, Bernard China, Faiza Mebkhout , Nesrine Boilattabi, Alaoua Bouchema, Ahmed Rebia, Ammar Ayachi, Djemel Khelef, Kamel Miroud, and Khatima Ait-Oudhia.,(2021) .** Antibiotic Resistance Profile of *Escherichia coli* Isolated from Bovine Subclinical Mastitis of Dairy Farms in Algeria from 2017 to 2019. *World Vet J*, 11(3): 402-415, September 25, 2021.
- Gilcrease, E. B., & Casjens, S. R. (2018).** The genome sequence of *Escherichia coli* tailed phage D6 and the diversity of Enterobacteriales circular plasmid prophages. *Virology*, 515, 203-214.
- Guardabassi,L. ,Courvalin ,P., (2006).** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. ASM Press, 1-18.
- Guinoiseau E., (2010),** thèse de doctorat : Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action.
- Haftu R, Taddele H, Gugsu G, and Kalayou S., (2012).** Prevalence, bacterial causes, and antimicrobial susceptibility profile of mastitis isolates from cows in large-scale dairy farms of Northern Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, 44:1765-1771.

- Hammoudi, A., & Aggad, H., (2008).** Antibioresistance of *Escherichia coli* strains isolated from chicken colibacillosis in Western Algeria. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 32(2), 123-126.
- Horvatić, A., Guillemin, N., Kaab, H., McKeegan, D., O'Reilly, E., Bain, M., & Eckersall, P. D., (2018).** Integrated dataset on acute phase protein response in chicken challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide endotoxin. *Data in brief*, 21, 684-699.
- Islam, M. A., Kabir, S. M. L., and Seel, S. K., (2016).** Molecular detection and characterization of *Escherichia coli* isolated from raw milk sold in different markets of Bangladesh. *Bangladesh J. Vet. Med.* 14, 271–275.
- Ismail ZB, and Abutarbush SM., (2020).** Molecular characterization of antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from bovine mastitis. *Veterinary World*, 13:1588-1593.
- Jacques Albert Dromigny, Pierre Nabeth, Ann Juergens-Behr, Jean David Perrier-Gros-Claude., (2005).** Facteurs de risque d' *Escherichia coli* résistante aux antibiotiques isolés d'infections des voies urinaires communautaires à Dakar, Sénégal, *Journal of Antimicrobien Chemotherapy* , Volume 56, Numéro 1, pages 236 à 239.
- Jeantet R., Croguennec T., Garric G. Et Brule G., (2017).** Initiation à La Technologie Fromagère. 2ème Ed., Editions TEC & DOC, Lavoisier, Paris. 209p.
- Joly, B et Reynaud, A., (2007).** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Paris : Tec. 3-182p.
- Kizi N., Makdoud S., (2014).** Analyse physicochimique et microbiologique du lait cru collecter au niveau de deux régions Akbou et Sidn Aich (Bejaia). Mémoire d'ingénieur, Université Abderrahmane Mira, Bejaia, 2 pp.
- Landecker H (2021),.** La résistance aux antibiotiques et la biologie de l'Histoire, *Journal OpenEdition Revue d'anthropologie des connaissances* [En ligne], 15-3.
- Lavigne J., Sotto A, Corinne Merle, Jacques Jourdan, Soussy C., Sirot D., (2008),** Résistance enzymatique d'*Escherichia coli* aux bêtalactamines et prévalence en clinique. *Annales de biologie clinique et de pathologie microbiologique*, 70(6), 341-347.
- Léonil, J., M.C. Michalski, And P. Martin. 2013.** Les structures supramoléculaires du lait : structure et impact nutritionnel de la micelle de caséine et du globule gras. *INRA Prod. Anim.* 26:129–144. doi:10.20870/productions-animales.2013.26.2.3142.
- Leymarios, F.C., (2010).** Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Voies d'amélioration par l'alimentation, thèse pour le doctorat vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Alfort. Paris, France, p15.
- Liu H, Meng L, Dong L, Zhang Y, Wang J and Zheng N.,(2021)** Prevalence, Antimicrobial Susceptibility, and Molecular Characterization of *Escherichia coli* Isolated From Raw Milk in Dairy Herds in Northern China.*Front. Microbiol.* 12:730656.

- Locatelli C., Barberio A., Bonamico S., Casula A., Paolo Moroni P. and Bronzo V. (2018).** Identification of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* from Bovine Clinical Mastitis Using a Ceftiofur-Supplemented Medium, *Foodborne Pathogens And Disease* .16, 8,
- Lrbaoui M., (2017).** Analyse microbiologique et physicochimique d'un lait pasteurisé de la région de Tlemcen, PFE de Master, Université de Tlemcen, 4 pp.
- Mehdi S., (2008).** La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan ii de Settat .THESE.[en ligne] .Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V faculte De Medecine Et De Pharmacie, 48-51p.
- Mehrzad, J., Duchateau, L., Pyörälä, S., Burvenich, C., 2002.** Blood and milk neutrophil chemiluminescence and viability in primiparous and pluriparous dairy cows during late pregnancy, around parturition and early lactation. *J. Dairy Sci.* 85, 3268–3276.
- Meskine A., Benabdlkader L., (2016).** Etude de la résistance et la multirésistance aux antibiotiques des souches isolées du lait crus. Mémoire. Université Mentouri Constantine. 53P.
- Messaï, C. R., Aït-Oudhia, K., Khelef, D., Hamdi, T. M., Chenouf, N. S., & Messaï, M. R., (2015).** Serogroups and antibiotics susceptibility pattern of avian pathogenic *Escherichia coli* strains responsible for colibacillosis in broiler breeding farms in the east of Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 9(49), 2358-2363.
- Michalova E., Novotna P., Schlegelova J., (2004).** Tetracyclines in veterinary medicine and bacterial resistance to them. A review. *Veterinarni Medicina-UZPI (Czech Republic)*.
- Mortari, A., & Lorenzelli, L., (2014).** Recent sensing technologies for pathogen detection in milk: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 60: 8-21.
- N'Guessan, É.; Godrie, T.; de Laubier, J.; di Tanna, S.; Ringuet, M.; Sindic, M. A., (2015)** Survey of Bacteria Found in Belgian Dairy Farm Products. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, 19 (4), 346–354.
- Nikaido, H., (2009),** Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem.* 78, 119-146.
- Ntuli, V., Njage, P. M. K., and Buys, E. M., (2016).** Characterization of *Escherichia coli* and other Enterobacteriaceae in producer-distributor bulk milk. *J. Dairy Sci.* 99, 9534–9549.
- Nüesch-Inderbilen M, Käppeli N, Morach M, et al., (2019).** Molecular types, virulence profiles and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* causing bovine mastitis. *Veterinary Record*.
- Olivares-Pérez J, Kholif AE, Rojas-Hernández S.,(2015).** Prevalence of bovine subclinical mastitis, its etiology and diagnosis of antibiotic resistance of dairy farms in four municipalities of a tropical region of Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 47:1497-1504.
- Ombarak RA, Hinenoya A, Elbagory ARM, and Yamasaki S., (2018).** Prevalence and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from raw milk and raw milk cheese in Egypt. *Journal of Food Protection*, 81:226-232.

Opatows M., (2020), Résistance bactérienne aux antibiotiques, apport du système national des données de santé, Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay.

Peyrou M., (2001), antibioresistance des souches bactériennes d'origine équine : Etude bibliographique et exemple de l'hôpital vétérinaire de St-Hyacinthe.

Philippon A., (2004). Cours de Bactériologie Générale antibiotique III : résistance bactérienne Espace Etudiant 2 : 1-9.

Pougheon S., (2001). Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse du doctorat d'état en médecine vétérinaire. Université Paul Sabatier. Toulouse. France.

Poutrel B., Bareille S., Lequeux G., and Leboeuf F. J. J. V. S. T., (2018). Prevalence of mastitis pathogens in France: Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* and *Escherichia coli*. Journal of Veterinary Science and Technology, 9(522), 2.

Rabee A. Ombarak , Atsushi Hinenoya , Sharda Prasad Awasthi , Atsushi Iguchi , Ayaka Shima, Abdel-Rahman M. Elbagory , Shinji Yamasaki., (2016) Prevalence and pathogenic potential of *Escherichia coli* isolates from raw milk and raw milk cheese in Egypt, International Journal of Food Microbiology, 221 : 69–76

Radostits, O. M., Gay, C. C., and Hinchcliff, K. W.,(2007). Veterinary Medicine— A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats. 10.ed. Philadelphia: Saunders. 673–762.

Roca-Fernandez, A.I., (2014) Animal factors condition milk performance and quality of grazing dairy cows Iranian Journal of Applied Animal Science, 4(1), 1-20.

Ruegg, P. L., Oliveira, L., Jin, W., and Okwumabua, O., (2014). Phenotypic antimicrobial susceptibility and occurrence of selected resistance genes in gram-positive mastitis pathogens isolated from Wisconsin dairy cows. J. Dairy Sci. 98, 4521–4534.

Saidani M, Messadi L, Soudani A, et al., (2018). Epidémiologie, Antimicrobial Resistance, and Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Clinical Bovine Mastitis in Tunisia. Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.), 24:1242-1248.

Saidani M, Messadi L, Soudani A, et al., (2018). Epidémiologie, Antimicrobial Resistance, and Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Clinical Bovine Mastitis in Tunisia. Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.), 24:1242-1248.

Saini, V., J. T. McClure, D. Léger, G. P. Keefe, D. T. Scholl, D. W. Morck, and H. W. Barkema.,(2012). “Antimicrobial Resistance Profiles of Common Mastitis Pathogens on Canadian Dairy Farms.” Journal of Dairy Science 95, no: 4319–32.

Sanders P., Perrin-Guyomard A. & Moulin G ., (2017). -Évolution de l'utilisation des antibiotiques en production animale. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 52: 301-311.

Srinivasan, V., Gillespie, B.E., Lewis, M.J., Nguyen, L.T., Headrick, S.I., Schukken, Y.H., Oliver, S.P., (2007), Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from dairy cows with mastitis. *Vet. Microbiol.* 124, 319–328.

Srivastava A.K., Kumaresan A., Manimaran A., Prasad S., (2015). Mastitis in Dairy Animals, An Update. Dehli, Satish Serial Publishing House.

SURVILLANE E., (1997) Surveillance des infections à *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) et du syndrome hémolytique et urémique (SHU) en Europe. DVG Commission des communautés européennes. [. Surveillance de l'euro.](#);2(12):pii=133.

Tahar S, Nabil MM, Safia T, Ngaiganam EP, Omar A, Hafidha C, Hanane Z, Rolain JM, Diene SM., (2020). Molecular Characterization of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Milk of Dairy Cows with Clinical Mastitis in Algeria. *Journal of Food Protection*, 83:2173-2178

Tark, D. S., D. C. Moon, H. Y. Kang, S. R. Kim, H. M. Nam, H. S. Lee, S. C. Jung, and S. K. Lim., (2017). Antimicrobial susceptibility and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis milk in South Korea from 2012 to 2015. *J. Dairy Sci.* 100:3463 – 3469.

Tark, D. S., Moon, D. C., Kang, H. Y., Kim, S. R., Nam, H. M., Lee, H. S., (2016). Antimicrobial susceptibility and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis milk in South Korea from 2012 to 2015. *J. Dairy Sci.* 100, 3463–3469.

-U. T. Tasnim and M. T. Islam., (2015). Pathogenic and drug resistant bacteria in raw milk of Jessore city : a potential food safety 49-Threat. Department of Microbiology, Jessore University of Science and Technology, Jessore 7408, Bangladesh. *Bangl. J. Vet. Med.* 13 (1) : 71-78.

Verbeke J., Piepers S., Supré K., De Vliegher S., (2014). Pathogen-specific incidence rate of clinical mastitis in Flemish dairy herds, severity, and association with herd hygiene, *J. Dairy Sci.* 97 :6926–6934.

Verraes, C.; Vlaemynck, G.; van Weyenberg, S.; de Zutter, L.; Daube, G.; Sindic, M.; Uyttendaele, M.; Herman, L., (2015) A Review of the Microbiological Hazards of Dairy Products Made from Raw Milk. *International Dairy Journal.*, pp 32–44.

Vignola, C.L., (2002). Science et technologie du lait-transformation du lait, École Polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34 (600 pages).

Waller, K. P., Aspan, A., Nyman, A., Persson, Y., & Andersson, U. G., (2011). CNS species and antimicrobial resistance in clinical and subclinical bovine mastitis. *Veterinary microbiology*, 152(1): 112-116.

Wang, D., Wang, Z., Yan, Z., Wu, J., Ali, T., Li, J., Lv, Y., & Han, B., (2015). Bovine mastitis *Staphylococcus aureus*: Antibiotic susceptibility profile, resistance genes and molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-sensitive strains in China. *Infection, Genetics and Evolution*, 31: 9-16.

Yassine Ben Lahlou , Elmostapha Benaissa , Adil Maleb , Mariama Chadli, Mostafa -Elouennass., (2020) Résistance aux antibiotiques des souches *D'Escherichia coli* isolées des urines et revue de la littérature .Journal Marocain des Sciences Médicales, Tome 22 ; N°3

Yu Z.N., Wang J., Hoc H., Wang Y.T., Huang S.N., Han R.W., (2020). Prevalence and antimicrobial-resistance phenotypes and genotypes of *Escherichia coli* isolated from raw milk samples from mastitis cases in four regions of China. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 22 94–101.

Yu, L., Shang, F., Chen, X., Ni, J., Yu, L., Zhang, M., & Xue, T.,(2018). The anti-biofilm Effect of silver-nanoparticle-decorated quercetin nanoparticles on a multi-drug resistant *Escherichia coli* strain isolated from a dairy cow with mastitis. *Peer Journal*, 6, e5711.

Yua, Z.N.J. Wangb, H. Hoc, Y.T. Wangd, S.N. Huangb, R.W. Hanb., (2020). Prevalence and antimicrobial-resistance phenotypes and genotypesof *Escherichia coli* isolated from raw milk samples from mastitis casesin four regions of China, *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 22: 94–101.

Résume

Le lait de vache est l'une des sources les plus importantes de nutriments essentiels pour l'homme. L'objectif de ce travail est l'isolement des souches d'*E Coli* à partir du lait cru de vache et l'étude de la résistance des isolats vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotiques. Pour cela, 52 prélèvements de lait à travers 6 élevages laitiers de la région d'Ain Témouchent ont été soumis à la recherche d'*E coli*. L'isolement des souches été réalisé sur la gélose sélective Mackonky, suivi d'une identification biochimique des isolats. Sur les 52 échantillons analysés, (26.92%) étaient contaminés par *E Coli*. Notre étude a révélé un taux élevé de résistance aux antibiotiques couramment utilisés notamment l'Ampicilline et l'Amoxicilline de la famille β -Lactamine qui sont dans nos résultats étaient représentés par (89.50%) et (89%), ainsi que l'association d'Amoxicilline+ Acide clavulanique (85%), l'ofloxacin de famille des Fluoroquinolones avec (71%) de résistance, le Tétracycline (68%) et dernièrement le Stréptomycine (62%). Cependant, des sensibilités très élevées ont été révélés à la colistine sulfate, la kanamycine, la triméthoprime + sulfaméthoxazole, chloramphénicol et la Céfotaxime, avec des valeurs de 98%, 90%, 98%, 92% et 95%, respectivement. En conclusion, les résultats obtenus soulignent l'importance du contrôle d'*E Coli* dans élevages bovins laitier en Algérie à différents stages pour préserver la santé publique. Enfin, dans la perspective du concept *One Health*, Les efforts pour lutter contre l'antibiorésistance doivent donc être menés de concert, tant en médecine humaine que vétérinaire.

Mots clés : *E Coli*, lait cru, sensibilité aux antibiotiques.

Abstract

Cow's milk is one of the most important sources of essential nutrients for humans. The objective of this work is the isolation of *E Coli* strains from raw cow milk and the study of the resistance of the isolates to a few antibiotic molecules. For this, 52 milk samples from 6 dairy farms in the Ain Témouchent region were tested for *E coli*. The isolation of the strains was carried out on Mackonky Selective Gelose, followed by a biochemical identification of isolates. Of the 52 samples analysed, (26.92%) were contaminated with *E Coli*. Our study revealed a high rate of resistance to commonly used antibiotics including Ampicillin and Amoxicillin of the family β -Lactamine which are in our results were represented by (89.50%) and (89%), as well as the combination of Amicilline+ Clavulanic Acid (85%), ofloxacin of the Fluoroquinolones family with (71%) resistance, tetracycline (68%) and most recently the Stretomycin (62%). However, very high sensitivities were revealed to colistin sulfate, kanamycin, trimethoprim + sulfamethoxazole, chloramphenicol and Cefotaxime, with values of 98%, 90%, 98%, 92% and 95%, respectively. In conclusion, the results highlighted the importance of controlling *E Coli* in dairy cattle farms in Algeria at different stages in order to preserve public health. Finally, in the perspective of the One Health concept, efforts to combat antibiotic resistance must therefore be carried out together, in both human and veterinary medicine

Keywords: *E Coli*, raw milk, antibiotic sensitivity.

المخلص

حليب البقر هو أحد أهم مصادر العناصر الغذائية الأساسية للإنسان. الهدف من هذه الدراسة هو عزل سلالات الإشريكية القولونية من حليب البقر الخام ودراسة مقاومة العزلات لبعض جزيئات المضادات الحيوية. لهذا السبب، تم اختبار 52 عينة من الحليب من 6 مزارع ألبان في منطقة عين تموشنت. تم عزل السلالات على Mackonky Sélective Gélose، وتم متابعتها كيميائياً. من بين 52 عينة تم تحليلها، (26.92%) كانت ملوثة بالإشريكية القولونية. كشفت دراستنا عن معدل عالٍ من المقاومة للمضادات الحيوية شائعة الاستخدام بما في ذلك الأميسيلين والأموكسيسيلين من عائلة β -لاكتامين والتي تم تمثيلها في نتائجنا بنسبة (89.50%) و (89%)، بالإضافة إلى مزيج من الأميسيلين + حمض الكلافيكولانيك (85%)، أوفلوكزاسين من عائلة فلبيوروكينولون بنسبة 71%. و تمثلت نسبة مقاومة المضادات الحيوية تيتراسيكلين، ستينيتوميسين ب (68%) و (62%). أما بالنسبة ل كوليستين سولفات، كناميسين، تريميتوبريم + سولفاميتوكزاسول، كلورافينيكولو سيفوتاكسيم تمثلت نسب مقاومتهم ب (98%)، (90%)، (9%)، (92%)، (95%) على التوالي. في الختام، نتائج دراستنا بينت لنا أهمية المتابعة الكيميائية للإشريكية القولونية في مزارع ماشية الألبان في الجزائر في مختلف الدورات للحفاظ على الصحة العامة. و في الأخير حسب منظمة *One Health*، الجهود لمكافحة ضد مقاومة المضادات الحيوية يجب أن يتم بصورة مشتركة في كل من الطب البشري والطب البيطري.

الكلمات المفتاحية: الإشريكية القولونية، حليب خام، حساسية المضادات الحيوية.