

Prévalence et antibiorésistance d'*Escherichia coli* dans les mammites bovines au Nord de la Tunisie

Saidani M.^{1,2}, Soudani A.^{1,2}, Dâaloul M.¹, Ben Chehida F.¹, Mamlouk A.¹, Messadi L.¹

1. Service de Microbiologie et Immunologie, Ecole nationale de médecine vétérinaire, Sidi Thabet
 2. Institut National Agronomique de Tunisie, Tunis
 3. Institut Supérieur des Sciences Biologiques Appliquées de Tunis, Tunis
 * mariem.saidani@gmail.com

Introduction

En Tunisie, le secteur laitier est un secteur stratégique de l'agriculture et de l'économie nationale. Cependant, les mammites représentent l'une des infections les plus couramment observées dans les élevages de bovins laitiers et sont responsables de graves conséquences sanitaires et économiques. Ces infections sont principalement causées par des bactéries coliformes (*E. coli*), des staphylocoques et des streptocoques. En Tunisie, peu de travaux ont ciblé l'étiologie des mammites bovines et la sensibilité aux antibiotiques des isolats. Nos objectifs visent l'identification, par les méthodes bactériologiques standards, des germes responsables de mammites. Il s'agit aussi d'estimer la prévalence des *E. coli* dans le lait de bovins à mammites ainsi que la détection des souches d'*E. coli* productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE). Nous avons également étudié leur phénotype de résistance vis-à-vis de 17 antibiotiques par la méthode de diffusion en gélose selon les recommandations de l'EUCAST 2016 et étudié les mécanismes moléculaires impliqués dans l'acquisition de ces résistances.

Méthodes

1. Méthodes biochimiques

La recherche des différents germes présents dans les 185 prélèvements de lait a été effectuée sur la gélose au sang. Alors que la recherche des *E. coli*, entre autres, les *E. coli* BLSE a été effectuée par ensemencement sur gélose MacConkey simple et MacConkey supplémenté de 2 µg/ml de céfotaxime et ce, après une étape de pré-enrichissement dans de l'eau peptonée tamponnée. L'identification biochimique des colonies qui ont poussé a été effectuée par des galeries biochimiques standards et par des galeries Api20E en cas de besoin. L'étude de la sensibilité des souches d'*E. coli* aux 17 antibiotiques (Tableau 1) a été effectuée par la méthode de diffusion en gélose selon les recommandations de l'EUCAST 2016.



2. Méthodes moléculaires

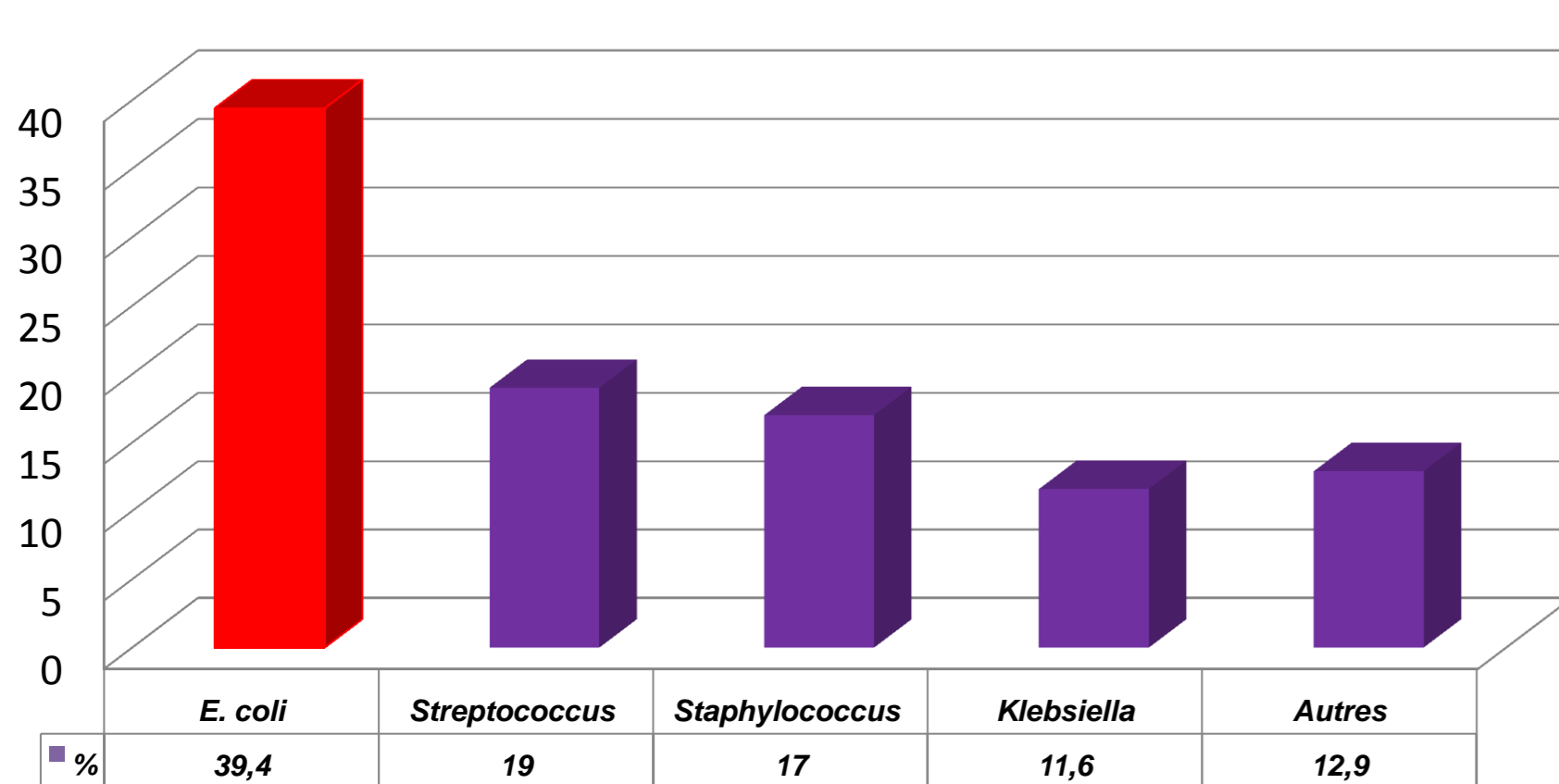
La première étape consiste en l'extraction de l'ADN des souches d'*E. coli* suivie d'une identification moléculaire par PCR ciblant le gène *uidA* afin de confirmer l'identification biochimique. Finalement, une caractérisation moléculaire des gènes impliqués dans l'acquisition des résistances aux β-lactamines et aux tétracyclines (gènes cibles : *bla CTX-M* groupe 1, *tetA* et *tetB*) est réalisée.

Tableau 1 : Liste des antibiotiques testés

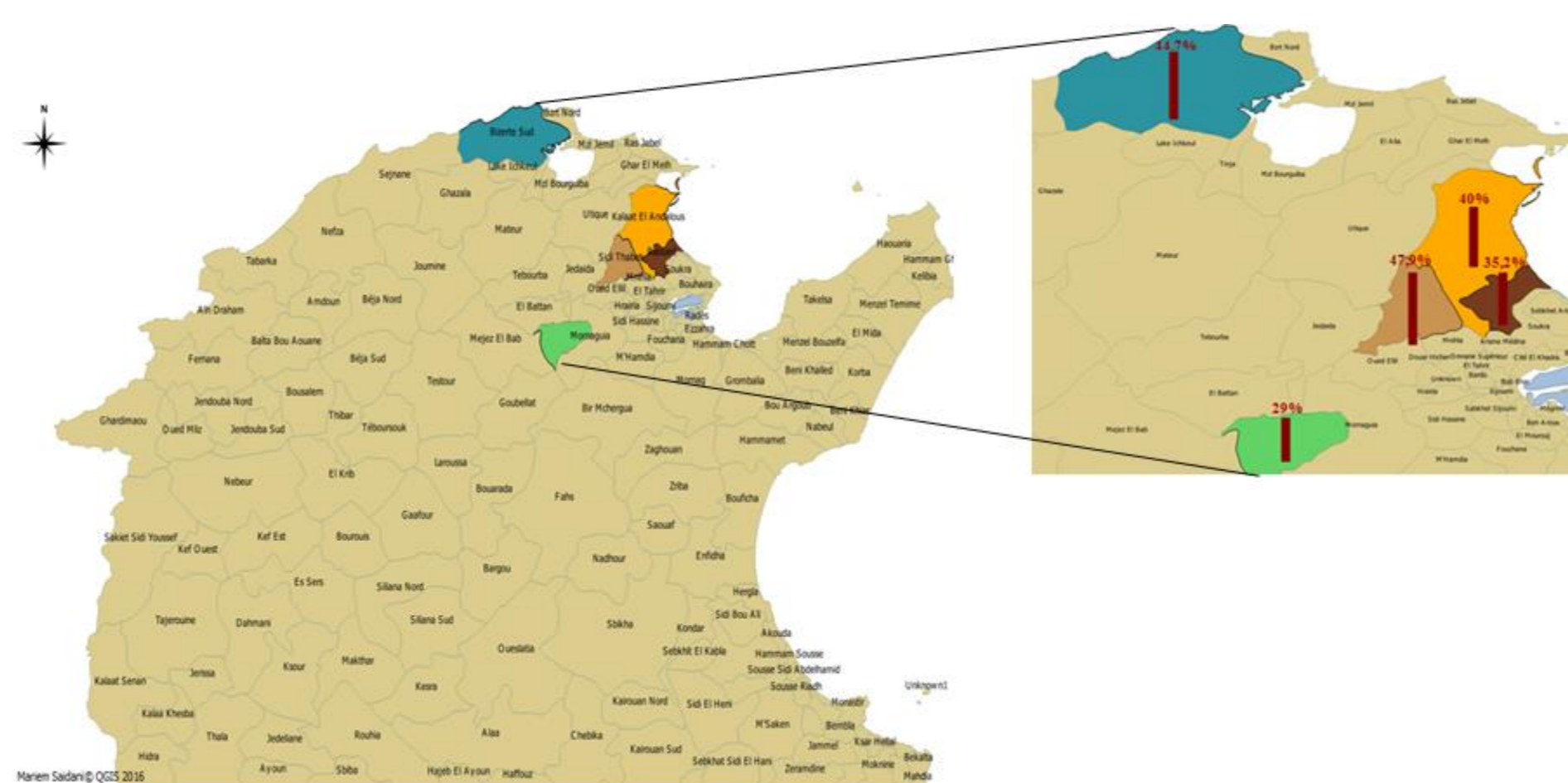
Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge des disques (µg)
β-lactamines	Amoxicilline	AMX	25
	Amoxicilline + Acide clavulanique	AMC	20/10
	Ticarcilline + Acide clavulanique	TCC	75/10
	Céfoxitine	FOX	30
	Ceftiofur	XNL	30
	Céfépime	FEP	30
	Céfotaxime	CTX	30
	Ceftazidime	CAZ	30
	Aztréonam	ATM	30
	Ertapénème	ETP	10
Phénicolés	Chloramphénicol	CHL	30
Aminosides	Gentamicine	GEN	15
Polypeptides	Colistine	CST	50
Quinolones	Acide nalidixique	NAL	30
Fluoroquinolones	Enrofloxacin	ENR	5
Cyclines	Tétracycline	TET	30
Sulfaméthoxazole + Triméthoprime	SXT	1,25/23,75	

Résultats et Discussion

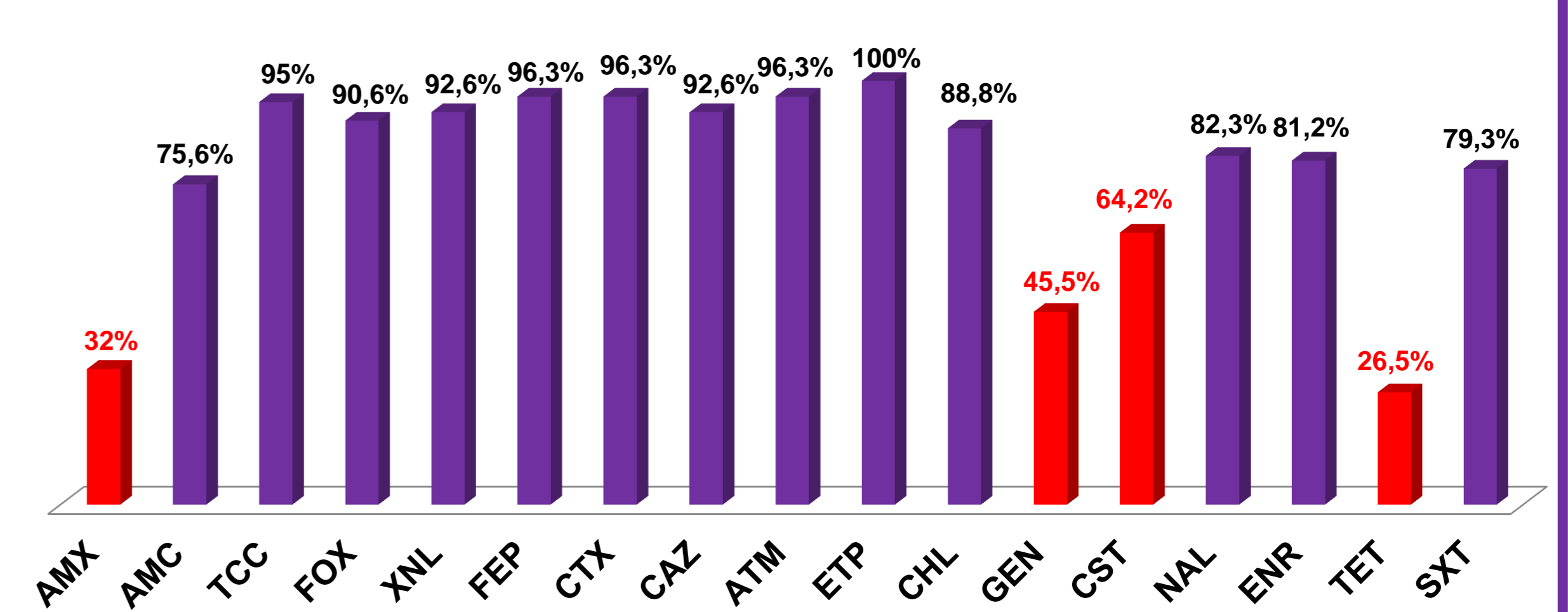
1. Prévalence des germes responsables de mammites



2. Prévalence d'*Escherichia coli* dans les régions étudiées



3. Etude de la sensibilité d'*Escherichia coli* aux antibiotiques testés



La prévalence des germes isolés dans les prélèvements de lait des vaches mammitieuses a révélé une prédominance d'*E. coli* 58/147 (39,4%), bactérie coliforme causant des mammites clinique aiguës d'évolution modérée à sévère, dont **2 (3,4%) étaient productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)**, enzymes capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} génération et les monobactames (aztréonam). Dans cette étude, la prévalence des *E. coli* producteurs de BLSE est inférieure à celle rapportée par Su et al. (2014) à Taiwan et par Grami et al. (2014) en Tunisie qui ont rapporté, respectivement, un taux de 10,5% et 10%. Cependant, elle est supérieure à celle décrite par Dahman et al. (2013) en France (0,4%).

4. Caractérisation moléculaire des gènes de résistance

La caractérisation moléculaire des résistances observées indique que 27,5% et 30% des souches d'*E. coli* résistant à la tétracycline possèdent, respectivement, les gènes *tetA* (figure 1) et *tetB* (figure 2). Les deux souches d'*E. coli* productrices de BLSE possèdent le gène *bla CTX-M* du groupe 1 (figure 3). Ces résultats devraient être complétés par le séquençage.

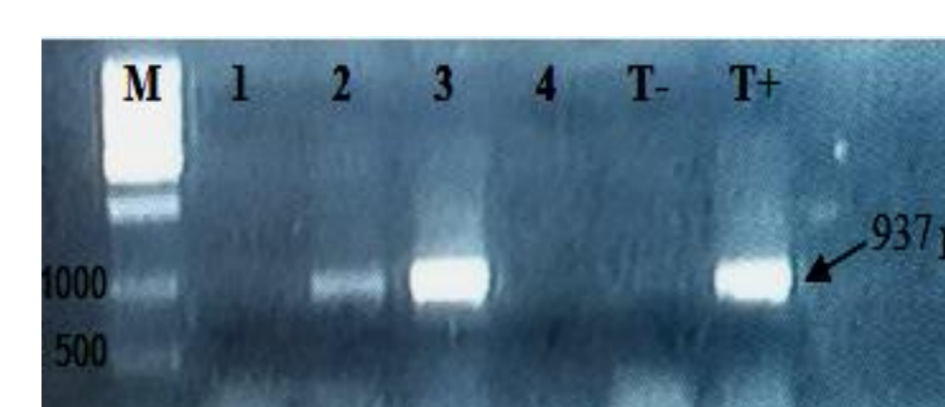


Figure 1 : PCR *tetA*



Figure 2 : PCR *tetB*

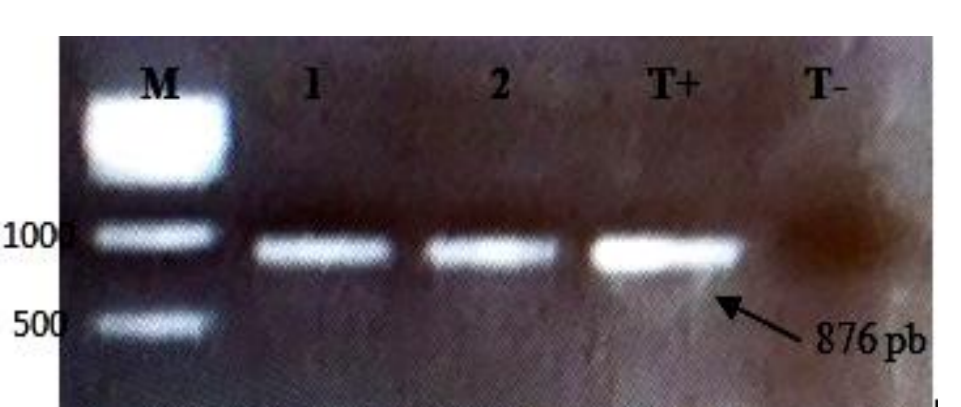


Figure 3 : PCR *bla ctx-M1*

Conclusion

Les antibiotiques permettent de lutter contre les infections bactériennes. Cependant, leur usage massif, parfois à des doses insuffisantes a conduit à la sélection de bactéries résistantes. L'expansion de ces bactéries est une menace pour la santé animale ainsi que pour la santé publique. Le traitement des bactéries productrices de BLSE par les carbapénèmes peut favoriser l'émergence des résistances vis-à-vis de cette molécule de dernier recours ce qui peut conduire à une véritable impasse thérapeutique.

Références

- Dahmen, S., Metayer, V., Gay E., Madec J.Y. and Haenni, M., 2013. Characterization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-carrying plasmids and clones of *Enterobacteriaceae* using cattle mastitis in France. *Vet. Microbiol.* 162 (2-4):793-799.
 Grami R., Dahmen S., Mansour W., Mehri W., Haenni M., Aouni M., and Madec Y.M., 2014. blaCTX-M-15-Carrying F2:A-:B- Plasmid in *Escherichia coli* from Cattle Milk in Tunisia. *Microb Drug Resist.* 20(4):344-9.
 Su Y., Yu C.Y., Tsai Y., Wang S.H., Lee C. and Chu C., 2014. Fluoroquinolone-resistant and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* from the milk of cows with clinical mastitis in Southern Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2014.10.003>.

