

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Batna 1- Hadj-Lakhdar
Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques
Département des Sciences Vétérinaire



Thèse présentée par :

GHALLACHE Loubna

En vue de l'obtention du diplôme de doctorat en sciences vétérinaires

Spécialité : Epidémiologie des maladies animales et santé publique

Thème :

*Caractérisation bactériologique et moléculaire des souches
d'Escherichia coli isolées de lait mammites*

Soutenue publiquement le : 13 Février 2022

Devant le jury :

Président :	Mr MAMACHE Bakir	Pr Univ. Batna 1
Rapporteur :	Mme AIT-LOUDHIA Khatima	Pr ENSV
Co-encadreur :	AYACHI Ammar	Pr Univ. Batna 1
Examineurs :	Mme HELLEILI Nouzha	Pr Univ. Batna 1
	Mme AOUN Leila	Pr Univ. Taref
	Mme AZZAG Naouel	Pr ENSV
Invité :	Mr Melizi Mohamed	M.C.A Univ. Batna 1

Année universitaire : 2021-2022

Dédicace

Grace à la volonté du dieu, et beaucoup de patience et de volonté, du profond de mon cœur je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers :

A la mémoire de ma chère maman,

Ce travail est dédié à ma mère décédée, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études, c'est le fruit de ses sacrifices qu'elle a consentit pour mon éducation et ma formation. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, elle apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde !

A mon cher père,

Qu'il reçoit, par le biais de ce projet, le signe de ma gratitude pour son dévouement inconditionnel et pour toutes les valeurs morales inculquées tout au long de ces années. A mon cher frère unique adoré Mohamed Amine, je t'aime du fond de mon coeur, tu mérites tout le bonheur.

A ma très chère grande soeur Chahinez, à son mari Abdelkader. Qui est pour moi un véritable grand frère, je vous exprime ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements, et à leurs anges, ma nièce Férial (Biba) et mes beaux neveux Zakaria, Youcef et Ilyes (Koukou), que dieu les garde tous.

A mes soeurs adorées Amina, Nadjwa et Imen et son petit aimé Haroune

Vous vous êtes investies pour moi sans compter en connaissances de tous les sacrifices consentis par chacune pour me permettre d'atteindre cette étape de ma vie, , que dieu vous garde et illumine vos chemins.

A tous qui sont chers à mon cœur et qui donnent sens à ma vie j'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

Remerciements

Je remercie en premier lieu Dieu tout puissant de m'avoir donné la force de réaliser ce modeste travail.

Bien que insuffisant, l'écriture des remerciements est un élément indispensable pour témoigner ma profonde reconnaissance à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères remerciements aux membres du jury :

Au Professeur MAMACHE Bakir,

Professeur à l'université de Batna, de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury de soutenance, qu'il trouve ici l'expression de notre profond respect ainsi que notre reconnaissance.

Au Professeur HELLEILI Nouzha,

Professeur à l'université de Batna, pour l'honneur qu'il nous a fait d'accepter de juger ce travail. Sincères remerciements.

Au Professeur AZZAG Naouelle

Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, nous vous remercions également de nous avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Au Professeur AOUN Leila ,

Professeur à l'université Chadli Bendjedid d'EL TARF , nous vous présentons nos sincères remerciements d'avoir accepté d'évaluer ce travail en prenant part à ce jury.

Au Professeur AYACHI Ammar,

Professeur à l'université de Batna, pour avoir co-encadré ce travail. Sincères Remerciements.

Au Professeur AIT OUDHIA KHATIMA,

Ma directrice de thèse, pour votre amour et votre soutien, j'admire beaucoup votre grande humanité et votre sympathie. C'est grâce à vous que j'ai eu l'opportunité de mener à bien cette thèse et je vous en suis très reconnaissante. Merci d'avoir accepté généreusement la charge de m'encadrer et d'avoir apporté à ce travail une valeur précieuse, merci pour votre disponibilité et votre confiance. C'est un plaisir de travailler avec vous. Je vous exprime toute ma gratitude, toute ma reconnaissance et mes profondes affections.

Mes remerciements s'adressent aussi **Au Docteur CHINA Bernard,**

D'avoir accepté de travailler avec nous, pour la partie de biologie moléculaire, en nous consacrant du temps et de l'énergie ; nous lui sommes reconnaissants pour son dévouement et sa disponibilité en tout temps ; sa bonne humeur et sa gentillesse. Nous lui témoignons nos sincères remerciements. Merci pour votre patience, vos précieux conseils, et vos encouragements. Hommages respectueux.

Au Professeur MELIZI Mohamed,

Professeur à l'université de Batna, MERCI de nous faire l'honneur et le plaisir de votre présence.

Au Dr. BOUCHMEL et à A Mr. REBIA Ahmed

Directeur du CNIAAG et l'ITELV respectivement, de nous avoir permis de réaliser notre travail au sein de leurs élevages, pour leur confiance et la mise à disposition de tous les moyens nécessaires afin d'exercer notre projet dans les meilleures conditions.

Mes remerciements s'adressent également aux **Dr. MENKHOUT Faiza,**

Pour m'avoir assisté tout au long de mes manipulations au sein du laboratoire de l'ITELV.

Merci pour vos qualifications, votre soutien moral et vos orientations précises et déterminées.

Je tiens à remercier tout les membres du Laboratoire de l'ITELV, **Dr. TERCHI Noura, Mme. BOUKHEDDOUNI Nawel , Mme. Yasmine,** d'avoir contribué à la réalisation de notre travail.

Un grand et sincère remerciement à **Mme. Boudjelal Louiza,** l'ingénieure de laboratoire d'HIDAOA à l'ENSV.

Pour finir, je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude à tout ceux et celles, qui de près ou de loin, ont rendu possible l'élaboration de ce travail.

Liste des Abréviations

- : négatif.

% : pourcent.

+ : positif.

<: Inférieur.

= : égale.

> : Supérieure.

C° : degrés Celsius

D° : degré Dornic.

ADN : acide désoxyribonucléique.

AIS : anti inflammatoire stéroïdiens.

AMM : autorisation de mise sur le marché.

API: analytical profile index.

BEN: bilan énergétique négatif.

BN : bouillon nutritif.

BHIB : brain heart infusion broth.

C: carbone.

CCI : comptage cellulaire individuel.

CCS : comptage des cellules somatiques.

CCSI : comptage des cellules somatique individuel.

Cell : cellule.

cm : centimètre.

CMT : California Mastis Test.

CNIAAG : centre national d'insémination artificielle et d'amélioration génétique.

DM : durée de la phase de croissance

DNAase: désoxyribonucléase.

EPIC : établissement public a caractère industriel et commercial.

Fc: fragment cristallisable.

FLK : fleckvieh.

g/l : gramme par litre.

g: gramme.

Gram- : gram négatif.

Gram+ : gram positif.

H : heures.

H*: hydrate

HCL: acide chlorhydrique.

HPR : holstein pis rouge.

Ig : immunoglobuline.

Ig1 : immunoglobuline 1.

Ig2 : immunoglobuline 2.

IgG: immunoglobuline gamma.

ITELV : institut technique d'élevage et de vulgarisation.

J : jour.

KG : kilo gramme.

l : litre.

LPS : lipopolysaccharide.

Mg/L: milli gramme par litre.

ml : millilitre.

MOB : montbéliarde.

MS : matière sèche.

N° : numéro.

Na : sodium.

NNP: azote non protéique.

NOR : normande.

PDIE : protéines réellement digestibles dans l'intestin grêle permises par l'énergie apportée par l'aliment.

PI : Production initiale.

PLP : Protéine Liaison Pénicilline.

PM : production maximale.

PNN : polynucléaire neutrophile.

shv : gène codant pour la betalactamase type sulfhydryl reagent variable (SHV).

Stx : Shiga toxine.

TB : taux butyreux.

TBX : tryptone bile X-glucuronide.

tem : gène codant pour la betalactamase type TEM (Temoneira - nom du patient).

TIAC : toxi-infection alimentaire collective.

TP : taux protéique.

UFC/ml : unité formant colonie par millilitre.

UFL : unité fourragère lait.

Liste des tableaux

Tableau 1	Classification d' <i>Escherichia coli</i> (Gilcrease et Casjens, 2018).	18
Tableau 2	Prévalence des mammites cliniques à <i>E.coli</i> selon le pays (Bultin des GTV 2010).	27
Tableau 3	Données sur les exploitations étudiées.	48
Tableau 4	Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme	58
Tableau 5	Antibiotiques pour la recherche de souches productrices de betalactamase à spectre élargi.	61
Tableau 6	La composition du mélange des réactifs « le MIX »	65
Tableau 7	Les cycles de la PCR <i>ctx m</i>	65
Tableau 8	Prévalence des mammites subcliniques par CMT	69
Tableau 9	Comparaison des prévalences entre fermes	70
Tableau 10	Résultat des analyses physico-chimiques des trois fermes étudiées	73
Tableau 11	L'association entre un test CMT positif ou négatif et certains paramètres du lait des vaches testées.	75
Tableau 12	Pourcentage des entérobactéries isolées lors de notre étude.	77
Tableau 13	Répartition de la prévalence d' <i>E.coli</i> au niveau de 3 fermes.	77
Tableau 14	Association entre la présence d' <i>E.coli</i> et le résultat du test CMT.	79
Tableau 15	Association entre la présence d' <i>E. coli</i> et les paramètres du lait.	80
Tableau 16	Profil de sensibilité d' <i>E.coli</i> vis à vis de 12 antibiotiques	82
Tableau 17	Profils de sensibilité aux antibiotiques des isolats d' <i>E. coli</i> producteurs de BLSE (n = 39) provenant du lait de vaches.	96

Liste des figures

Figure 1	Les structures chimiques des principales β -lactamines et les inhibiteurs des β -lactamases cliniquement disponible (Nordmann <i>et al.</i> , 2012).	34
Figure 2	Localisation la ferme SPA agricole DOUMA de Tipaza	47
Figure 3	Localisation de la ferme du CNIAAG (www.cniaag.dz).	47
Figure 4	Localisation de la ferme de l'ITELV (http://www.itelv.dz).	47
Figure 5	Prélèvements du lait dans les pots stériles (Photo personnelle).	49
Figure 6	EKOMILK (photo personnelle).	50
Figure 7	Tubes de disques imprégnés d'antibiotiques pour antibiogramme (Photo personnelle).	54
Figure 8	Aspect des colonies d' <i>E.coli</i> sur milieu TBX (photo personnelle).	55
Figure 9	Galerie API 20 E après incubation 18 h à 37°C et après ajout des réactifs (Photo personnelle).	56
Figure 10	réactifs nanovalents <i>E.coli</i> EPEC (0111 086 0125 055 0119 0126 026 0127 0128) (Photo personnelle).	57
Figure 11	Réalisation de test de sérologie sur lame (photo personnelle).	57
Figure 12	Agglutination sur lame (photo personnelle).	57
Figure 13	Ajustement de l'opacité de l'inoculum à l'aide d'un spectrophotomètre.	59
Figure 14	Application des disques dans les deux boites de l'antibiogramme (Photo personnelle).	60
Figure 15	Application des disques pour la recherche de betalactamase.	62
Figure 16	Test double disque (a).Test double disque, application des deux disques d'AMC (20/10 μ g) et CTX (30 μ g) à une distance de 30mm. (b). Test du double disque remplacement du disque d'AMC par CTX après 1h d'incubation à une température ambiante.	63

Figure 17	réalisation de PCR uniplex (photo personnelle).	64
Figure 18	Electrophorèse sur gel d'agarose (photo personnelle).	66
Figure 19	Répartition des vaches en fonction du stade de lactation.	68
Figure 20	Répartition des vaches en fonction du rang de lactation.	68
Figure 21	Répartition des vaches en fonction de leur race.	69
Figure 22	Résultat global du CMT par rapport aux vaches examinées.	70
Figure 23	les courbes de la production laitière des vaches examinées. (a).courbe de lactation de groupe des vaches en début de lactation. (b). courbe de lactation de groupe des vaches en mi-lactation.	72
Figure 24	Relation entre résultat du test CMT avec PL, Acidité, TP et TB.	75
Figure 25	Association entre la présence d' <i>E. coli</i> et les paramètres du lait.	80
Figure 26	Sérogroupage des souches <i>E.coli</i>	81
Figure 27	Antibiogramme d'une souche <i>E.coli</i> après incubation 18 h à 37 C°(Photo personnelle).	81
Figure 28	Profil de résistance d' <i>E.coli</i> vis à vis de 12 antibiotiques	82
Figure 29	Pourcentages de multirésistance des souches <i>E. coli</i> isolées.	91
Figure 30	Corrélation entre les résistances des souches <i>E. coli</i> isolées.	91
Figure 31	Souche <i>E.coli</i> productrice de β -lactamase à spectre étendu test de synergie (Photo personnelle).	93
Figure 32	Souche <i>E.coli</i> productrice de β -lactamase à spectre étendu test du double disque positif (Photo personnelle).	93
Figure 33	Profil de migration par électrophorèse sur gel d'agarose du gène <i>blactxM</i> (photo personnelle).	97

Table des matières

<i>Liste des abréviations</i>	6
<i>Liste des tableaux</i>	7
<i>Liste des figures</i>	8
<i>Introduction</i>	14
	17
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	
I. Présentation d'Escherichia coli	17
I.1. Définition	17
I.2. Historique	17
I.3. Classification	17
I.4. Habitat	18
I.5. Caractères généraux	18
I.5.1. Caractères morphologiques et cultureux	18
I.5.2. Caractères biochimiques	18
I.5.3. Caractères antigéniques	18
I.6. Génome d'Escherichia coli	19
I.7. Les Escherichia coli pathogènes	19
I.8. Les facteurs de virulence	20
I.8.1. Les facteurs de virulence potentiels	20
I.8.2. Shigatoxines (Stx) d'Escherichia coli	21
I.8.3. Les facteurs d'adhésion	21
I.8.4 L'entéro-hémolysine d'Escherichia coli	21
II. Description épidémio-clinique des mammites à Escherichia coli	22
II.1. Aspect clinique des mammites à Escherichia coli	22
II.2.1. Physiopathologie des mammites à Escherichia coli	22
II.2.2 Symptômes	27
II.3 Epidémiologie des mammites à Escherichia coli	27
II.3.1 Epidémiologie descriptive	27
II.3.1.1 Incidence et prévalence	27
II.3.1.2 Importance et Gravité	28

II.3.2 Epidémiologie analytique	28
II.3.2.1 Source et voies de transmission	28
II.3.2.2 Facteurs de risque	29
III. Antibiotique et antibiorésistance	32
III.1. Aperçu sur les antibiotiques	32
III.1.1 Définition	32
III.1.2 Mode d'action des principales familles d'antibiotiques	33
III.1.2.1 Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane (paroi)	33
III.1.2.2 Antibiotiques agissant au niveau de la membrane cytoplasmique	36
III.1.2.3 Antibiotiques inhibant la synthèse protéique	37
III.1.2.4 Antibiotiques inhibiteurs du métabolisme des acides nucléiques	38
III.1.3 Antibiotiques en élevages	39
III.2 Aperçu sur l'antibiorésistance	40
III.2.1 Historique	40
III.2.2 Définition	40
III.2.3 Les différents types de résistance	40
III.2.3.1 Résistance naturelle	40
III.2.3.2 Résistance acquise	41
III.2.3.3 Résistance croisée et Co-résistance	41
III.2.4 Mécanismes de résistance	41
a. Inactivation enzymatique de l'antibiotique	41
b. Modification de la cible	42
c. Diminution de la perméabilité	42
d. Excrétion par efflux	42
III.2.5 Impact de la résistance aux antibiotiques	42
III.2.6 Résistance des entérobactéries	42
a. Résistance des entérobactéries aux bêta-lactamines	42
b. Résistance des entérobactéries aux aminosides	43
c. Résistance des entérobactéries aux Quinolones	43
d. Résistance aux tétracyclines	43

e. Résistance aux sulfamides	43
f. Résistance à la colistine	43
i. Résistance aux macrolides	43
III.3 Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE)	44
III.3.1 Définition	44
III.3.2 Différents types de BLSE	44
a. BLSE de type TEM (Temoneira - nom du patient)	44
b. BLSE de type SHV : (Sulphydryl variable)	45
c. BLSE de type CTX-M (Cefotaximase-Munich)	45
d. Autres types de BLSE	46
Chapitre 2 : <i>Partie expérimentale</i>	47
I. Matériel et méthodes	47
I.1. Objectif de l'étude	47
I.2. Présentation de la zone et période du travail	47
I.3. Exploitations laitières	48
I.4. Échantillonnage et conditions expérimentales	48
1.4.1 Choix des fermes	48
1.4.2 Choix des vaches à prélever	48
1.4.3 Les prélèvements et les analyses réalisés	49
1.4.4 Diagnostic des mammites subcliniques par le test CMT	50
1.4.5 Analyses physico-chimiques du lait	50
1.4.6 Analyse bactériologique	52
1.4.7 Sérogroupage	56
1.4.8 Contrôle de qualité	57
1.4.9 Antibiogramme	57
1.4.10 Recherche phénotypique de la β -lactamase à spectre étendu (BLSE) chez les <i>E.coli</i>	60
1.4.11 Caractérisation des souches <i>E.coli</i> β -lactamases par PCR (Polymerase Chain Reaction)	64
I.5. Analyse statistique	67

II. Résultats et discussion	68
II.1. Caractéristiques de l'échantillon	68
II.2. Résultat du test (CMT)	69
II.3. Production laitière des vaches examinées	71
II.4. Analyses physico-chimiques du lait	73
II.5. Impact des mammites sub-cliniques sur la production laitière et certain paramètre physico-chimique	74
II.6. Bactériologie	76
II.6.1. Isolement et identification des <i>E. coli</i>	76
II.6.2. La corrélation entre la présence d'<i>E. coli</i> et le résultat du CMT	78
II.6.3. Association entre <i>E. coli</i> et les paramètres du lait	79
II.7. Le sérogroupage des souches <i>E. coli</i>	80
II.8. L'antibiogramme	81
II.8.1. Etude de sensibilité et de résistance d'<i>E. coli</i> isolés	81
II.8.2. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques	84
II.8.3. La multirésistance	90
II.8.4. La corrélation entre les résistances	91
II.9. La recherche phénotypique des BLSE	92
II.10. La recherche de gènes codant pour les enzymes BLSE : CTX- M par PCR	96
III. Conclusion et recommandations	99
Références bibliographiques	101

Introduction

Introduction

Dans tous les pays en voie de développement, les récentes croissances rapides de la population et leur urbanisation accrue, ont entraîné l'augmentation rapide de la demande d'aliment, et particulièrement les aliments d'origine animale. Nourrir les villes est donc devenu, un défi pour les gouvernements de ces pays.

En Algérie, le secteur laitier est considéré comme stratégique et bénéficie d'une politique de soutien par l'Etat, depuis deux décennies, en raison de son rôle socio- économique. En effet, une attention particulière est accordée au lait orienté vers la consommation de masse puisqu'il représente une source de protéines animales appréciable dans le modèle alimentaire local.

La recherche de rendements plus élevés des élevages laitiers locaux est de plus en plus soutenue à cause de la forte hausse des prix de matières premières laitières sur les marchés internationaux qui fait augmenter la facture d'importation qui a frôlé le milliard de dollars en 2012 (**MADR, 2013**) d'un aliment qui pourrait être produit localement. D'où l'urgence d'une prise en charge continue de la filière laitière bovine qui constitue le principal pourvoyeur de l'industrie laitière algérienne et du marché de consommation en lait et produits laitiers.

En effet, dans de nombreux pays développés, une mise sous surveillance systématique et régulière est entreprise au sein des élevages laitiers afin de dépister les cas de mammites. En revanche en Algérie la plupart des élevages ne sont soumis à aucun contrôle laitier régulier. Selon le ministère de l'Agriculture et du développement rural, l'Algérie a un cheptel de **1,9 millions têtes bovines** (dont **52%** vaches laitières) pèse pour **6 %** de l'effectif global durant la période 2010-2017 (**MADR,2018**).

Cependant, la mammite est la pathologie la plus coûteuse et la plus importante dans l'industrie laitière. Elle se définit comme étant l'inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la glande mammaire, caractérisée par des changements physiques, chimiques et microbiologiques de la sécrétion lactée ainsi que des modifications pathologiques dans le tissu mammaire. Les pertes économiques se justifient par le faible rendement des mamelles infectées, les traitements vétérinaires, les saisies de lait ainsi que la réforme prématurée des vaches (**Peton et Le Loir, 2014**). En termes d'incidence des mammites subcliniques, un coût moyen annuel de 4896 € a été estimé dans un troupeau de 100 vaches laitières au Pays-Bas (**Halasa et al., 2009**). Or, la présence d'agents pathogènes et/ou de toxines dans le lait ainsi

Introduction

que des résidus d'antibiotiques résultant de traitement des mammites peut compromettre sérieusement la santé publique.

Ces infections sont principalement causées par des bactéries coliformes (*E. coli*), des staphylocoques et des streptocoques (**Bouaziz., et al 2006**).

Escherichia. coli (*E. coli*) est sans doute l'un des micro-organismes vivants le plus étudié à ce jour. En effet, l'ancienneté de sa découverte (1885) et sa culture aisée (division cellulaire toutes les 20 minutes à 37°C dans un milieu riche) en font un outil d'étude de choix. De même, *E. coli* est considéré comme modèle standard dans les laboratoires de biologie moléculaire. La profusion de publications scientifiques qui le mentionnent en témoigne.

De la famille des *Enterobacteriaceae*, *E. coli* a longtemps été considéré comme un simple commensal du tractus digestif des mammifères. Cependant, grâce à leur multiplication rapide et la plasticité de leurs génomes, certaines souches sont capables de co-évoluer avec leurs hôtes et d'échapper à leurs mécanismes de défense. Ces propriétés expliquent en grande partie l'émergence régulière de nouvelles souches pathogènes (pathovars) ayant acquis par échange génétique des facteurs de virulence.

Etant donné le peu de connaissance sur l'importance de la diversité des souches d'*E. coli* incriminées dans les mammites en matière de facteurs de virulence, aucun vaccin n'est disponible à l'heure actuelle pour lutter efficacement contre la maladie, en conséquence l'antibiothérapie une fois le diagnostic établi reste le seul moyen de lutte contre la maladie.

Cette situation, a poussé les éleveurs à un usage abusif et erroné des antibiotiques dans le but d'assurer la rentabilité de leurs élevages, en occultant le fait qu'ils participent à l'émergence de bactéries résistantes, voire multirésistantes qui peuvent entraîner de sérieux risques pour la santé humaine.

Plusieurs études ont été menées dans différentes régions du monde: Au Canada (**Fairbrother, et al., 2010**), en France (**Pontrel et al., 2018**) (**Boireau et al., 2018**), en Chine (**Cheng et al., 2019**) (**Yu.,2020**), en Thaïland (**Hinthong., 2017**), en Tunisie (**Saidani et al., 2018**) et en Algérie (**Sedrati et al., 2020**). Elles 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.

Introduction

Nos objectifs visent l'estimation de la prévalence des *E. coli* dans le lait de bovins à mammite par les méthodes bactériologiques standards dans certaines fermes du centre d'Algérie, ainsi que son impact sur la quantité et la qualité du lait. Il s'agit aussi de rechercher des souches d'*E. coli* potentiellement productrices de bêtalactamases à spectre étendu. L'attention a été aussi portée sur la caractérisation phénotypique (antibiorésistance et sérogroupage) et génotypique (recherche des gènes codant pour la production des bêta lactamases) des différents isolats.

Pour ce faire, nous allons suivre un plan classique où après une synthèse bibliographique qui portera respectivement sur : La bactériologie générale d'*E. coli*, description épidémioclinique des mammites à *Escherichia coli*, et les antibiorésistances. Nous aborderons une deuxième partie consacrée à l'étude expérimentale qui concernera les différents protocoles relatifs à l'échantillonnage, l'analyse physico-chimique, l'analyse bactériologique (isolement, antibiogramme, sérogroupage) et génotypique. Le dernier chapitre sera réservé, quant à lui, à l'interprétation des résultats et débouchera également sur l'ouverture des discussions et sera conclu par des recommandations.

Chapitre 1. Synthèse bibliographique

I. Présentation d'*Escherichia coli*

I.1. Définition

Escherichia coli, également appelée colibacille et abrégée en *E. coli*, est un bacille à Gram négatif radio-résistant aéro-anaérobie facultatif (AAF). Elle compose environ 80 % de notre flore intestinale aérobie (**Kaper et al., 2004**).

La plupart des *Escherichia coli* sont inoffensifs et ont une fonction utile dans le corps (**Horvatić et al., 2018**). Cependant, l'acquisition et la combinaison de facteurs de virulence chez les souches *Escherichia coli* peuvent entraîner des modifications de leur comportement pouvant occasionner diverses infections telles des infections intestinales ou extra-intestinales. (**Levine et al., 1987**).

I.2. Historique

C'est en 1885 que cette bactérie est décrite pour la première fois dans des selles de nourrissons, par le médecin Allemand Theodor Escherich (1857-1911) sous le nom de *Bacterium coli* commune (**Escherich, 1885**). Toutefois, en 1904, cette même bactérie a été isolée dans un cas d'infection urinaire et en 1919, Castellani et Chambers donnent le nom d'*Escherichia coli* à cette bactérie (**Grimont, 1987**).

I.3. Classification

L'espèce *E.coli* fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. 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'*Escherichia coli* (**Gilcrease et Casjens, 2018**).

Tableau 1 : classification d'*Escherichia coli* (Gilcrease et Casjens, 2018).

Domaine	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	Entérobactérie
Famille	<i>Enterobactériaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

I.4. Habitat

E. coli est un agent ubiquiste faisant partie de la flore gastro-intestinale normale des mammifères, certaines souches ont réussi à acquérir des attributs spécifiques leur permettant une adaptation à de nouvelles niches. (Kaper *et al.*, 2004).

I.5. Caractères généraux

I.5.1. Caractères morphologiques et cultureux

Escherichia coli ou colibacille est une bactérie Gram négative asporulée mesurant 2 à 4 µm de long sur 0,4 à 0,6 µm de large. C'est une bactérie arrondie, mobile grâce à une ciliature péritriche. Ce germe non exigeant, Sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène (type « smooth » ou S). Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface sèche rugueuse (type « rough » ou R) (Euzéby, 2004 ; Micali *et al.*, 2018).

I.5.2. Caractères biochimiques

E.coli possède une catalase mais est dépourvue d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces dernières permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille (Fluadroit, 2004 ; Pang *et al.*, 2017).

I.5.3. Caractères antigéniques

Les composants antigéniques d'*E. coli* sont variés et appartiennent à quatre types de structures. Leur identification permet de définir le sérotype, c'est-à-dire l'association des spécificités des antigènes O, H et si possible K. L'antigène somatique O, définissant le sérotype, est contenu dans les lipopolysaccharides présents sur la paroi bactérienne des souches à coloration de Gram négative (**Orskov et Genus, 1986**).

L'antigène flagellaire H est de nature protéique entrant dans la structure du flagelle permettant la mobilité de la bactérie. L'antigène de surface K est présent de façon inconstante mais bloque l'agglutinabilité de l'antigène O et donc le sérogroupage lorsqu'il est présent. L'identification des antigènes et sérogroupes a permis de différencier des souches pathogènes des souches commensales. En effet, certains sérotypes ne sont jamais, ou rarement, associés à des maladies tandis que d'autres le sont très fréquemment (**Orskov, 1984**).

I.6. Génome d'*Escherichia coli*

Le patrimoine génétique de la souche *E.coli* de laboratoire non pathogène a été entièrement séquencé en 1997. Leur génome comprend 4,6 millions de paires de bases codant environ 4 200 protéines. En 2001, le génome d'une souche d'*E. coli* entéro-hémorragique a été séquencé. Il comprend 5,5 millions de paires de bases codant 5 400 protéines. L'année suivante, le génome d'une souche d' *E.coli* provoquant des infections urinaires et des méningites néonatales, a été séquencé. Il comprend 5,2 millions de paires de bases codant 5 300 protéines. Ceci témoigne du remarquable potentiel évolutif et de la versatilité de ce taxon bactérienne (**Hacker et al., 2003**).

Le nombre total des gènes de l'espèce est estimé 17.838 gènes en 2009. La majorité des souches, porte environ 4.721 gènes, et seulement 1.976 gènes appartiennent au fond commun c'est à dire que uniquement 11% des gènes connus sont communs à toutes les souches de *Escherichia coli* (**Hacker et al., 2003**).

I.7. Les *Escherichia coli* pathogènes

Escherichia coli peut devenir pathogène lors de l'affaiblissement des défenses de l'hôte et/ou suite à l'acquisition d'attributs de virulence. Il est responsable, chez l'animal, du même potentiel infectieux que chez l'Homme, causant une grande variété de maladies intestinales et extra-intestinales (**Gyles et Fairbrother, 2010**).

L'expression d'un répertoire spécifique de facteurs de virulence est corrélée à une pathologie particulière et permet de définir différents pathovar (**Gyles et Fairbrother, 2010**).

Ces pathovars sont à l'origine de nombreux cas de morbidité et de mortalité dans le monde entier. Les souches d'*Escherichia coli* pathogènes sont sectionnées en deux groupes des souches responsables d'atteintes et d'infections intestinales (diarrhée, colite hémorragique) ou extra-intestinales (syndrome hémolytique et urémique, purpura thrombotique thrombocytopenique) (Gyles et Fairbrother, 2010).

Le pouvoir pathogène d'une bactérie peut soit venir des facteurs de colonisation (adhésines), soit de la production de toxines, soit de sa capacité à envahir les tissus de l'hôte.

I.8. Les facteurs de virulence

La définition des facteurs de virulence et la compréhension des mécanismes impliqués dans le pouvoir pathogène des souches d'*Escherichia coli* sont des préalables indispensables à l'évaluation du risque pour la santé publique lié à l'existence de ces pathogènes. Ainsi, la combinaison des facteurs de virulence impliqués dans le pouvoir pathogène des souches reste encore à déterminer. L'étude des facteurs de pathogénicité d'*Escherichia coli* a montré que dans l'espèce, il existe de nombreuses variantes des facteurs : (Wenz *et al.*, 2006).

I.8.1. Les facteurs de virulence potentiels

- **Une capsule** qui s'oppose à la phagocytose.
- **Des protéines** de la membrane externe et le LPS donnant aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément.
- **Des systèmes de captation du fer : Les sidérophores**: notamment codé par l'îlot de pathogénicité fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication, au détriment de la transferrine.
- **Des toxines :**

L'endotoxine commune aux entérobactéries.

Les entérotoxines ST (thermostables) et LT (thermolabiles). Ce sont des toxines cytotoxiques qui agissent sur le contrôle entérocytaire de la sécrétion hydro-électrolytique la toxine LT est proche de la toxine cholérique.

Les cytotoxines SLT1 et SLT2 (Shiga-like toxine). Ce sont des toxines qui altèrent l'intégrité des entérocytes. On les appelle encore des vero-toxine (VT) à cause de leur effet toxique sur les cellules vero en culture. (Vervet origine - vervet, un singe africain) (Levine, 1988).

Sat et Vat : Sat (secreted auto transporter toxin) et Vat (vacuolating auto transporter toxin) sont des toxines de type V, de la famille des auto-transporteurs. Elles vont produire une vacuolisation et un engorgement cellulaire. Le rôle de la toxine **Vat** dans la pathogénèse

d'une infection extra-intestinale d'*Escherichia coli* n'a pas encore été bien identifié. La toxine **Sat** provoque un dommage sévère dans les reins, perte de la membrane glomérulaire, perte de l'épithélium des tubules, et une vacuolisation du tissu, mais sans avoir un rôle déterminé dans la colonisation de la bactérie.

- Des protéases, telles que la sérine protéase, la catalase peroxydase, la métallo-protéase.
- Des systèmes de résistance à l'acidité gastrique et des uréases.

I.8.2. Shigatoxines (Stx) d'*Escherichia coli*

Le principal réservoir animal est représenté par les ruminants domestiques particulièrement les bovins. Les bovins sont la principale source des infections humaines (viande de boeuf hachée, produits laitiers, contamination fécale des végétaux et de l'eau) par les souches STEC O157 ou non- O157. mais ceux-ci ne causent pas de signes cliniques chez ces derniers (**Fairbrother et Nadeau, 2010**).

I.8.3. Les facteurs d'adhésion

L'adhérence constitue une étape essentielle de la pathogénèse due aux bactéries entériques. Les principaux sont les facteurs impliqués dans le développement des lésions d'attachement et d'effacement (A/E) des enterocytes, qui est responsable de diarrhées, et se caractérisent par un effacement des microvillosités des cellules de l'épithélium intestinal dans la zone de contact entre la bactérie et la cellule cible (**Mainil et al.,2000**).

Les gènes (*paou prs*) qui codent pour cette adhésine sont souvent liés génétiquement aux clusters *hlyet cnf*, codant pour la toxine CNF.

Une autre adhésine, le fimbriae S, codée par les gènes *sfa*, est utilisée pour s'attacher aux récepteurs de l'acide sialique. Les fimbriae de type 1 (*fim*), et *pap*(pyelonephritis-associatedpilus) ou fimbriae P, sont les adhésines les mieux caractérisées (**Mainil et al.,2000**).

I.8.4. L'entéro-hémolysine d'*Escherichia coli*

L'hémolysine nommée E-HlyA est une protéine codée par le gène *ehx* sur l'opéron plasmidique *ehxCABD*. E-HlyA appartient aux groupes des toxines RTX (Repeats in Toxin); son mécanisme consiste à s'insérer dans la membrane plasmique, formant des pores, ce qui aboutit à la lyse osmotique de la cellule cible consécutive à la fuite du contenu cellulaire plasmique, en provoquant la lyse des hématies, les hémolysines provoquent la libération de fer dans le milieu ce qui est propice au développement des bactéries (**Fairbrother et Nadeau, 2010**).

II. Description épidémio-clinique des mammites à *Escherichia coli*

La mammite ou l'inflammation au niveau de la glande mammaire se développe lorsqu'un agent pathogène réussit à traverser les barrières du canal du trayon et à se multiplier à l'intérieure dans le lait. Elle est généralement septique et provoquée la plupart du temps par une infection bactérienne. Cependant, il existe des mammites aseptiques qui sont rares et provoquées par des traumatismes locaux, des toxiques ou des désordres physiologiques (Rémy, 2010).

Lorsque les mécanismes de défense immunitaire combattent cette infection rapidement et de façon efficace, la mammite sera de faible intensité et transitoire. En revanche, lorsque les mécanismes de défense sont compromis, lors de période de parturition par exemple, ou lorsque l'agent pathogène possède des mécanismes d'évasion face au système immunitaire, la mammite sera plus sévère ou chronique. L'intensité de la réponse inflammatoire déterminera le type de mammite; subclinique ou clinique (Morin, 2009).

II.1. Aspect clinique des mammites à *Escherichia coli*

II.1.1. Physiopathologie des mammites à *Escherichia coli*

La majorité des infections intra-mammaires à *E. coli* ont lieu au début ou à la fin du tarissement (Smith *et al.*, 1985; Blum *et al.*, 2000). Elles demeurent subcliniques jusqu'au moment de la parturition. Plus souvent, la maladie est rencontrée chez les vaches fortes productrices, durant les deux semaines suivant la parturition et chez les vaches qui ont un comptage de cellules somatiques bas (Gyles et Fairbrother, 2010). Les *E. coli* causant les mammites cliniques à coliformes sont des agents pathogènes opportunistes de l'environnement et il ne semble pas y avoir une association entre le sérotype, le génotype ou les facteurs de virulence présents et la sévérité de la maladie (Wenz *et al.*, 2006). La résistance au sérum est considérée comme étant le seul point en commun entre les différents isolats d'*E. coli*, mais, même pour ceci, la fréquence rapportée varie entre 59 et 99,5 % (Blum *et al.*, 2010).

➤ Entrée dans la glande mammaire

La mammite se développe lorsque le canal du trayon de la vache est exposé directement aux matières fécales ou à un environnement contaminé. *E. coli* pénètre au niveau du trayon et s'installe dans le canal et dans les sinus lactifères. L'intensité de la réponse de l'hôte déterminera l'apparition des signes cliniques (Fairbrother et Nadeau, 2010 ; Blum *et al.*, 2017).

➤ **Multiplication dans la glande mammaire**

Les coliformes ne semblent pas coloniser la glande mammaire, mais plutôt se multiplier dans les sécrétions sans attachement au niveau des cellules de surface (**Morin, 2009 ; Islam et al., 2020**). L'adhésion d'*E.coli* au niveau de l'épithélium de la glande mammaire n'a pas un rôle important pour la pathogénie de la maladie. Ainsi la sévérité de la mammite est directement proportionnelle au comptage bactérien dans les sécrétions mammaires. Deux facteurs de virulences sont importants pour les coliformes à ce stade de l'infection ; la capacité d'utiliser le lactose comme source d'énergie et la capacité de se multiplier dans des conditions de quasi-anaérobiose. Le lactose est le principal glucide présent dans le lait. L'oxygène y est présent en faible quantité. Par conséquent, les bactéries ont une croissance exponentielle dans le sinus galactophore (**Hogan et Larry Smith, 2003 ; Fagiolo et Lai, 2007**).

➤ **Adhésion et invasion**

L'adhésion des microorganismes au niveau des cellules de l'hôte est la première étape de la colonisation. Le tropisme cellulaire, c'est-à-dire l'attachement aux cellules, dépend beaucoup de la souche d'*E.coli* mise en jeu. Elle est très variable, de très faible à très efficace. Si l'attachement aux cellules épithéliales n'a pas été démontré, il est toutefois possible que les bactéries puissent se lier à d'autres cellules du tissu (**Fagiolo et Lai, 2007**).

En général, les bactéries n'envahissent pas le tissu mammaire mais restent dans la lumière de la glande, citernes et sinus lactifères. Lors de mammites sévères d'évolution aiguë, la pathogénicité n'est pas liée à l'invasion et à la colonisation de l'épithélium (**Fagiolo et Lai, 2007**).

Pour une mammite chronique, il peut se produire un attachement temporaire, réversible et relativement faible d'*E.coli* avec l'épithélium intact du sinus lactifère. On ne peut pas le qualifier d'adhésion car il ne comprend pas la fixation à un récepteur comme c'est le cas de certaines souches d'*E.coli* à la membrane des entérocytes. Cependant cette liaison peut éventuellement déclencher la libération de cytokines dans un second temps, qui attirent alors les cellules inflammatoires (**Fagiolo et Lai, 2007**).

Plusieurs adhésines ont été associées avec la pathogénie d'*E.coli* lors de maladie chez les bovins. Les adhésines fimbriaires F17 codé par des gènes F17a-A, F17b-A, F17c-A et F17d-A, ont été détectés chez des *E. coli* produisant des mammites bovines. Les adhésines fimbriaires P et S, codées par les opérons pap et sfa, sont produites par les souches d'*E. coli*

uropathogènes et pourraient aussi être d'importance pour les souches de mammite. En 2010, il a été rapporté que 16,7 % des souches de mammite bovine étudiées en Finlande possédaient le gène papC (Suojala *et al.*, 2011). Les adhésines afimbriaires sont encodées par divers gènes afa. Ces adhésines, ou protéines d'adhésion, permettent l'adhérence des *E. coli* pathogènes aux divers tissus de l'hôte. Les gènes codant pour les adhésines fimbriaires P et S ainsi que pour l'adhésine afimbriaire AfaE-8 ont été détectés chez des *E. coli* de mammite (7 %, 8 % et 1 % respectivement) en Finlande (Kaipainen *et al.*, 2002). Une autre adhésine afimbriaire connue est la CS31A qui est un polypeptide de surface. Le gène codant pour cette adhésine a été détecté chez quelques *E. coli* de mammite (Wenz *et al.*, 2006). L'adhésine fimbriaire de type I (gène fimH) a également été détectée dernièrement chez des *E. coli* de mammite (Fernandes *et al.*, 2011).

➤ **Persistence au niveau de la glande mammaire**

Suivant les facteurs de virulence, de la gestion du troupeau par l'éleveur, ainsi que de l'efficacité des défenses de l'animal, la plupart des cas de mammite bovine dus à *E. coli* sont transitoires et se terminent par la mort de l'agent pathogène ou de l'hôte (Yu *et al.*, 2018).

La persistance de l'infection traduisant un équilibre entre la multiplication du microorganisme et les défenses de l'animal. Il a été démontré que *E. coli* était capable de causer des infections persistantes dans la glande mammaire sans développement d'une réponse immune significative, mais aussi de survivre à l'intérieur de neutrophiles (Lam *et al.*, 1996). Récemment, il a été démontré que les souches d'*E. coli* associées à des infections chroniques pénétraient plus efficacement les cellules mammaires épithéliales que des souches associées à des infections aiguës (Islam *et al.*, 2020).

Une infection intra-mammaire persistante doit être due à une souche bactérienne unique présente pendant une longue période au niveau de la glande mammaire, engendrant des isollements répétés provenant de multiples épisodes de mammite clinique (Zadoks *et al.*, 2011).

Des études antérieures ont pu démontrer que certains *E. coli* ont la capacité de persister au niveau de la glande mammaire, mais que ce phénomène était plutôt rare (Bradley et Green, 2001).

➤ **Contagion**

Lorsque la même souche d'*E. coli* est isolée lors d'infection au niveau de la glande mammaire à répétition, mais au niveau de quartiers différents, ceci pourrait indiquer qu'il y a

eu un transfert de cette souche entre les quartiers, donc de la contagion. Ceci est un phénomène qui a été détecté antérieurement. Au Royaume-Uni, 8,5 % des cas récurrents apparaissant dans différents quartiers de la même vache possédaient le même génotype que le *E. coli* isolé initialement (**Bradley et Green, 2001**).

➤ Réponse de l'hôte

La réponse de l'hôte face à la présence d'*E. coli* dans la glande mammaire dépend du stade de lactation. Les sécrétions provenant d'une glande mammaire tarie ne supportent pas la croissance et la multiplication des coliformes. À ce stade, c'est la faible quantité de fer qui est le facteur limitant. Lors du tarissement, les lactoferrines, agents chélateurs du fer, augmentent, et ce, jusqu'au début de la production du colostrum (**Hogan et Larry Smith, 2003**).

Par contre, en période de parturition ou durant les premières semaines de la lactation, les vaches sont plus susceptibles à développer des signes cliniques plus marqués suite à la multiplication du *E. coli* dans la glande mammaire. Ceci est dû au fait que les vaches sont immuno-supprimées et que l'appel des neutrophiles est moins efficace ou que les mécanismes de phagocytose et de mort intracellulaire des bactéries sont fragilisés (**Smith, 1985**).

Les neutrophiles sont les cellules les plus importantes pour la défense de l'hôte face à une infection à *E. coli*. Il est essentiel que ces cellules arrivent rapidement au niveau de la lumière de la glande mammaire afin d'avoir une efficacité totale. Ainsi, lorsque la période de lactation est bien établie, les infections mammaires à *E. coli* sont accompagnées d'un minimum de signes cliniques systémiques tels que la fièvre et d'une diminution temporaire de la production laitière. Les signes cliniques sont modérés et la vache guérie par elle-même. Dans cette situation, la réponse inflammatoire est considérée comme étant physiologique à 100 % (**Burvenich et al., 1994**).

Durant la période de parturition ou en début de lactation, plusieurs facteurs permettent au *E. coli* de se multiplier en grande quantité. Les facteurs les mieux connus sont la faible concentration de lactoferrines dans le lait, une réponse tardive des leucocytes polynucléaires, une diminution au niveau de la tension d'oxygène due à la multiplication bactérienne. Ceci engendre ainsi une diminution de l'efficacité de la destruction des *E. coli* dans les phagolysosomes et une transition rapide vers la présence d'une population leucocytes mononucléaires dans la glande mammaire remplaçant les polynucléaires plus efficaces (**Fairbrother et Nadeau, 2010**).

Les *E. coli* se multiplient et meurent dans la glande mammaire libérant ainsi les LPS (endotoxine) de la membrane cellulaire externe. La liaison des LPS avec les cellules de l'hôte initie la production de TNF- α par celles-ci. Le TNF- α est responsable de l'enclenchement de la cascade de l'inflammation qui est causé lors de l'apparition des signes cliniques locaux et systémiques (Hoeben *et al.*, 2000 ; Blum *et al.*, 2000). Les prostaglandines, IL-1, IL-6, IL-8, C5a et l'oxyde nitrique sont d'autres éléments importants dans la réponse inflammatoire (Morin, 2009). Malgré le fait que la concentration de LPS dans le lait soit élevée, celle-ci n'est pas détectable ou très faible dans le plasma). La production des médiateurs de l'inflammation au niveau de la glande mammaire est responsable de l'appel des neutrophiles. Lorsque l'appel de ceux-ci se fait de façon efficace et rapide, les bactéries sont phagocytées et détruites. Si l'appel n'est pas efficace, les bactéries se multiplient et les signes cliniques de mammites apparaissent (Morin, 2009).

➤ **Évasion de la défense cellulaire**

La capacité d'évasion du système immunitaire, plus précisément des neutrophiles, est un facteur de survie important pour les coliformes. La charge bactérienne dans la glande mammaire et la sévérité de la maladie dépendent de la rapidité et de l'efficacité de la réponse des neutrophiles. La susceptibilité d'un coliforme face à la phagocytose dépend de la variabilité au niveau des antigènes de surface exposés. Ainsi, les *E. coli* ayant la capacité de produire une capsule auront plus tendance à engendrer des infections intramammaires de plus longue durée que les souches d'*E. coli* non capsulées. De plus, la présence de composantes cellulaires autres que la capsule peut avoir un effet sur la phagocytose. Certains *E. coli*, faisant parti des sérogroupes O8 et O9, possèdent des facteurs antiphagocytique qui ne sont pas associés à la capsule. Plusieurs *E. coli* ont la capacité d'exprimer des cytotoxines et des hémolysines, mais la production d'exotoxines ne semble pas être un point critique afin de faciliter l'évasion du système de défense de l'hôte (Hogan et Larry Smith, 2003).

➤ **Sensibilité au sérum**

La résistance face à l'activité bactéricide du sérum est un facteur de virulence commun à plusieurs coliformes en cause lors de mammites. Par contre, ceci n'est pas un prérequis pour la maladie. L'activité bactéricide du sérum est possible grâce au complément. De plus, l'activité du complément est plus importante dans les sécrétions d'une glande mammaire en involution que dans le lait produit en période de lactation (Hogan et Larry Smith, 2003).

Par contre, la résistance face au sérum ne varie pas chez les coliformes, qu'ils soient prélevés durant le tarissement ou durant la période de lactation. De plus, le pourcentage de coliformes sensibles au sérum en provenance de cas d'infection intra-mammaire est similaire au pourcentage de coliformes sensibles présents dans l'environnement de vaches. Ainsi, les coliformes résistants au sérum n'ont pas d'avantage par rapport aux coliformes sensibles au sérum en ce qui concerne les infections intra-mammaires (**Hogan et Larry Smith, 2003**).

II.1.2.Symptômes

La majorité des mammites à *E. coli* produisent des signes cliniques locaux, mais un peu moins de 10 % des cas seront systémiques ou seront accompagnés d'une diminution marquée de production laitière (**Smith et al., 1985 ; Bradley et Green, 2000**).

II.2. Epidémiologie des mammites à *Escherichia coli*

II.2.1. Epidémiologie descriptive

II.2.1.1. Incidence et prévalence

Les bactéries à Gram négatif et plus particulièrement les coliformes sont une cause majeure de mammites en élevage bovin laitier (**Morin, 2009**). *Escherichia coli* est une bactérie fréquemment isolée des mammites. En effet, les mammites à *E. coli* sont la cause la plus fréquente de mammite en début de lactation (**Bradley et Green, 2001**). Bien que l'incidence de ces mammites varie d'un pays à l'autre, elle se situe généralement autour de 20% (**Poutrel, 2008**). Par contre, une incidence plus élevée, atteignant 50% a été rapportée dans certains pays (**Fairbrother et Nadeau, 2010**). Les mammites à coliformes sont une cause majeure (30 à 50 %) de maladie au niveau des élevages performants de vaches laitières (**Morin, 2009**).

Tableau 2 : prévalence des mammites cliniques à *E.coli* selon le pays (**Bultin des GTV 2010**).

Pays	Année	Prévalence relative,%
Australie	2009	25,6
Canada	1998	17,2
France	2008	17,0
Royaume-Uni	2004-2005	26,7
Etats-Unis	2007	21,0
Suède	2003	15,9

II.2.1.2. Importance et Gravité

➤ Importance économique

Les mammites bovines constituent un domaine pathologique dans les élevages laitiers où elles occasionnent des pertes économiques considérables. Ces pertes sont liées aux réductions de production laitière, quant à la mammite à *E. coli*, qui survient fréquemment au début de la lactation, ces pertes peuvent être graves vu la capacité de croissance d'*E.coli* exponentielle en conditions quasi anariobiose (**Remy, 2010**).

L'impact économique résulte de la somme des coûts des actions de maîtrise des mammites (traitements et préventions) et des pertes (réductions de production, lait non commercialisé, pénalités sur le prix de vente, mortalités et réformes anticipées) (**Remy, 2010**).

➤ Gravité

Certaines bactéries pathogènes et / ou leurs toxines, ainsi que les résidus après traitement, sont présents dans le lait de la vache atteinte de mammite et constituent un grand danger pour la santé humaine (**Murinda et al., 2019**).

Étant donné que le potentiel d'*E.coli* à coloniser le pis dépend en partie de sa capacité à se multiplier dans le lait, la croissance des différentes souches d'*E.coli* a donc été évaluée dans le lait entier frais (**Roussel et al. 2017**).

E.coli est parmi les bactéries les plus impliquées dans les intoxications alimentaires par ingestion des produits laitiers et en absence de pasteurisation elle est responsable des troubles digestifs (**Roussel et al. 2017**).

II.2.2. Epidémiologie analytique

II.2.2.1. Source et voies de transmission

En ce qui concerne la mammite à *E. coli*, la source d'infection la plus commune est la matière fécale présente dans l'environnement des vaches. La litière organique telle que la paille, les sciures et copeaux de bois supporte bien la croissance du *E. coli*, surtout lorsque la température est élevée et lorsque la litière est humide (**Morin, 2009**).

Ceci favorise donc la contamination du canal du trayon et augmente l'incidence de la mammite. Quelques études antérieures démontrent que certaines souches d'*E.coli* provoquant des mammites auraient des caractéristiques semblables à celles des agents de mammite contagieuse. Ces caractéristiques sont la persistance au sein de la glande mammaire,

l'apparition de mammites récurrentes dans le même quartier avec un *E. coli* possédant le même génotype et la transmission de l'infection d'un quartier à l'autre (**Bradley et Green, 2001**).

II.2.2.2 Facteurs de risque

➤ **Facteurs de risques liés à l'agent pathogène**

Selon Deogo (2020), ces facteurs sont liés aux:-Protéines de la membrane externe et le LPS donnant aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément.-Systèmes de captation du fer (Les sidérophores) notamment codé par l'îlot de pathogénicité fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication, au détriment de la transferrine.-Entérotoxines ST (thermostables) et LT (thermolabiles).

Ce sont des toxines cytotoxiques qui agissent sur le contrôle entérocytaire de la sécrétion hydro-électrolytique la toxine LT est proche de la toxine cholérique.-Cytotoxines SLT1 et SLT2 (Shiga-like toxine). Ce sont des toxines qui altèrent l'intégrité des entérocytes. On les appelle encore des vero-toxine (VT) à cause de leur effet toxique sur les cellules vero en culture. (Vervet origine -vervet, un singe africain).

- Une capsule qui s'oppose à la phagocytose.
- Des protéines de la membrane externe et le LPS donnant aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément.
- Des systèmes de captation du fer : Les sidérophores : notamment codé par l'îlot de pathogénicité fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication, au détriment de la transferrine.
- Des toxines
- Les entérotoxines ST (thermostables) et LT (thermolabiles).Ce sont des toxines cytotoxiques qui agissent sur le contrôle entérocytaire de la sécrétion hydro-électrolytique la toxine LT est proche de la toxine cholérique.
- Les cytotoxines SLT1 et SLT2 (Shiga-like toxine). Ce sont des toxines qui altèrent l'intégrité des entérocytes. On les appelle encore des vero-toxine (VT) à cause de leur effet toxique sur les cellules vero en culture. (Vervet origine - vervet, un singe africain).

➤ Les facteurs de risques liés à l'hôte

a. L'âge

Les vaches multipares ont une plus grande réceptivité et sensibilité aux mammites causées par des bactéries à Gram négatif que les primipares ; cette sensibilité augmente avec l'âge. L'incidence des mammites est positivement corrélée avec l'âge et avec le nombre de lactations. Les vaches les plus âgées et ayant vêlé durant l'été représentent la population la plus à risque de développer une mammite coliforme (**Smith *et al.*, 1985 ; Dego, 2020**). La plus grande prédisposition aux infections coliformes des vaches avec un rang de lactation élevé serait la conséquence de modifications physiques telles qu'une modification des tissus du trayon, associée à une perte d'élasticité du sphincter, ainsi que la présence éventuelle de lésions (**Poutrel, 1983**).

b. Les stades la lactation

La lactoferrine est une glycoprotéine du lait qui fixe le fer et le rend moins disponible pour les bactéries. Or la prolifération des Enterobactéries est dépendante du fer libre. Ainsi, cette glycoprotéine a une activité antibactérienne non spécifique mais efficace et sa diminution en période peripartum contribue à augmenter la sensibilité de la glande mammaire aux infections «colibacillaires». Au tarissement, l'accumulation de fluide et l'augmentation de pression dans la mamelle entraînent la dilatation du canal du trayon et favorise ainsi l'entrée d'agents pathogènes de l'environnement. Alors qu'en lactation ces agents pathogènes seraient éliminés par la traite, au tarissement, ils persistent dans le trayon. En début de période sèche, les vaches sont plus à risque d'infections notamment par *E.coli*. En effet, on remarque que le risque d'infection par *E.coli* est trois à quatre fois plus élevé après le tarissement qu'en période de pleine lactation (**Leelahapongsathon *et al.*, 2016**).

Lors d'une réponse immunitaire rapide, seul le tissu du sinus galactophore est touché, sans implication pour le tissu sécrétoire, la production n'est alors pas affectée. Plus le délai de migration des neutrophiles vers le tissu mammaire est long et plus la multiplication bactérienne sera élevée ainsi que la quantité d'endotoxine capable de passer dans le sang (**Hogan et Smith, 2003**).

De plus, les signes généraux sont d'autant plus marqués que la dose d'endotoxine est importante. Or en période post partum, le cortisol diminuerait la margination des polymorphonucléaires. En effet, la margination est effective après un délai de 10 à 12 heures.

Les changements cellulaires dans le lait sont constatés 15 heures après le début de l'induction expérimentale de la mammites à *Escherichia coli* alors que des signes généraux sont déjà présents (**Burvenich et al., 1994**). Les complications de l'endotoxémie sont donc accrues après le vêlage.

c. Génétique

La grande variabilité de la sensibilité des vaches aux mammites coliformes peut aussi être expliquée par des facteurs génétiques. Pour savoir quel est le poids du fond génétique dans la sensibilité aux mammites, plusieurs paramètres ont été étudiés : l'héritabilité mère fille l'influence du facteur paternel chez les filles ou les sœurs. De plus, certains facteurs comme le nombre et la fonctionnalité des neutrophiles au début de la lactation, la concentration du sérum en anticorps et en cellules, ainsi que différents caractères physiques ont été étudiés en relation avec les facteurs génétiques. L'héritabilité des mammites cliniques est très faible autour de 0,02 (**Rupp et Boichard, 2001**). L'héritabilité des CCS est un peu supérieure et égale à 0,17. De plus il existe une corrélation génétique positive entre ces deux paramètres qui est de 0,72. Ainsi l'utilisation du paramètre CCS comme critère de sélection permet d'améliorer la résistance aux mammites (**Rupp et Boichard, 2001**).

➤ Les facteurs de risques liés à l'environnement

a. Le bâtiment

Les mammites dues à *E. coli* sont habituellement classées en tant que mammites dites d'environnement, c'est-à-dire celles pour lesquelles l'environnement des animaux constitue la première source de contamination. En effet, la source principale est la matière fécale présente dans l'environnement de la vache. L'infection de la mamelle a lieu lors d'un contact entre les trayons et un milieu contaminé (**Smith et al., (1985) ; Islam et al., (2020)**). Le fumier ou la litière présentent le support de la prolifération bactérienne. La charge bactérienne devient critique au-dessus de 10⁶ bactéries par gramme de fumier. Cette limite est atteinte lorsque le fumier est laissé sur de longues périodes de temps (défaut d'une hygiène adéquate, mauvaise pratique d'élevage, utilisation intensive de certains endroits). Dans ces conditions, une augmentation de l'incidence des mammites à *Escherichia coli* est constatée (**Smith et al., 1985**).

❖ L'humidité ambiante, la température et le pH

Une humidité ambiante élevée, lors de mauvaises conceptions du bâtiment et de défauts de ventilation, accélère la prolifération bactérienne. Aussi, une élévation de température est associée à une charge bactérienne accrue des surfaces de couche.

De fait, une augmentation estivale des colibacilles totaux est constatée. Enfin, la prolifération des bactéries à Gram négatif est fonction du pH, elle est favorisée lorsqu'il égale 8,5 à 9,5 (Sahu *et al.*, 2019).

b. Rationnement

Le peri-partum représente la période durant laquelle des déficits énergétique et protéique sont souvent présents. Ainsi l'augmentation de la concentration plasmatique des corps cétoniques possède un impact négatif sur les fonctions des neutrophiles et est associée à une plus grande sensibilité aux mammites (Hogan *et al.*, 1993). Deux nutriments essentiels pour la santé de la mamelle sont la vitamine E et le sélénium. Ces derniers interviennent dans les fonctions anti-oxydantes au niveau tissulaire et cellulaire. En effet, la glutathion peroxydase, dont la fonction est régulée par ces deux composés, permet de protéger les neutrophiles et les macrophages de l'action destructrice des molécules d'oxygène toxiques (ROS) qui sont produites lors de l'explosion respiratoire (Hogan *et al.*, 1993).

III. Antibiotiques et antibiorésistance

III.1. Aperçu sur les antibiotiques

III.1.1. Définition

Selon l'étymologie du mot "antimicrobien" (du grec anti, signifiant "contre", mikros, signifiant "petit", et bios, qui signifie "la vie"), les agents antimicrobiens sont des substances qui ont la capacité d'agir contre la vie de micro-organismes (Guardabassi et Courvalin, 2006).

Un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est à dire produite par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres micro-organismes. (Yala *et al.*, 2001).

D'après les bactériologistes, les antibiotiques sont des composés naturels ou chimiques qui agissent à faibles doses sur les micro-organismes et qui n'ont pas de toxicité sur l'hôte.

L'utilisation des antibiotiques doit donc répondre à un certain nombre de règles qui découlent de la connaissance de ces substances, de leurs caractères physico-chimiques essentiels et surtout de leurs propriétés biologiques dans l'organisme; leur pharmacocinétique, leur activité antibactérienne et leurs effets toxiques ou secondaires éventuels (**Pittsburgh, 2003**).

III.1.2 Mode d'action des principales familles d'antibiotiques

Les antibiotiques agissent essentiellement par l'inhibition spécifique d'une étape précise d'une fonction bactérienne. Ils se fixent sur des sites moléculaires de la cellule bactérienne entraînant ainsi la perturbation de diverses réactions métaboliques, sans affecter la cellule hôte, ce qui nécessite la connaissance, de plus en plus précise, des fonctions spécifiques et vitales de la bactérie, lesquelles, pourraient constituer des cibles potentielles. Ces dernières sont caractéristiques de chaque famille (**Poyart, 2003**).

III.1.2.1 Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane (paroi)

Le peptidoglycane est un polymère réticulé fait de chaînes polysaccharidiques reliées par des peptides. Cette molécule n'existe que chez les bactéries et assure la rigidité de la paroi. Les précurseurs du peptidoglycane sont synthétisés dans le cytoplasme et assemblés à l'extérieur de la membrane cytoplasmique. Lorsque les bactéries sont en phase de croissance, il existe simultanément des phénomènes de synthèse et de destruction du peptidoglycane. L'équilibre entre ces deux phénomènes est rompu par les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane. Il en résulte une altération de la paroi ayant un effet létal pour la bactérie (**Nauciel et Vildé, 2008**).

➤ β -lactamines :

Les β -lactamines ont la capacité de détruire les bactéries sensibles en inhibant la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane, un constituant fondamental de la paroi bactérienne. Elles se fixent sur la transpeptidase, l'enzyme de la dernière étape de synthèse du peptidoglycane selon leur affinité pour une ou plusieurs protéines liant la pénicilline (PLP) (**Mesaros, 2005**). Ces protéines sont des enzymes impliquées dans la phase finale de la synthèse du peptidoglycane, c'est-à-dire l'étape de polymérisation à partir de sous-unités faites d'un disaccharide-peptide. L'activité enzymatique des PLP est inhibée par leur liaison avec les β -lactamines. Une bactérie contient plusieurs variétés de PLP. L'affinité des β -lactamines pour les PLP peut varier selon les β -lactamines et selon les PLP (**Nauciel et Vildé, 2008**).

La famille des β -lactamines comprend un nombre important de molécules, toutes présentent un cycle β -lactame indispensable à l'activité antibiotique: les pénames (pénicillines), les céphèmes (céphalosporines), les monobactames, les pénèmes (carbapénèmes) et les inhibiteurs des β -lactamases. Elles ont en commun un noyau β -lactame présentant une analogie structurale avec la terminaison D-ala-D-ala du précurseur du peptidoglycane. Ces classes sont présentées dans la figure 3 (Nordmann et al., 2012).

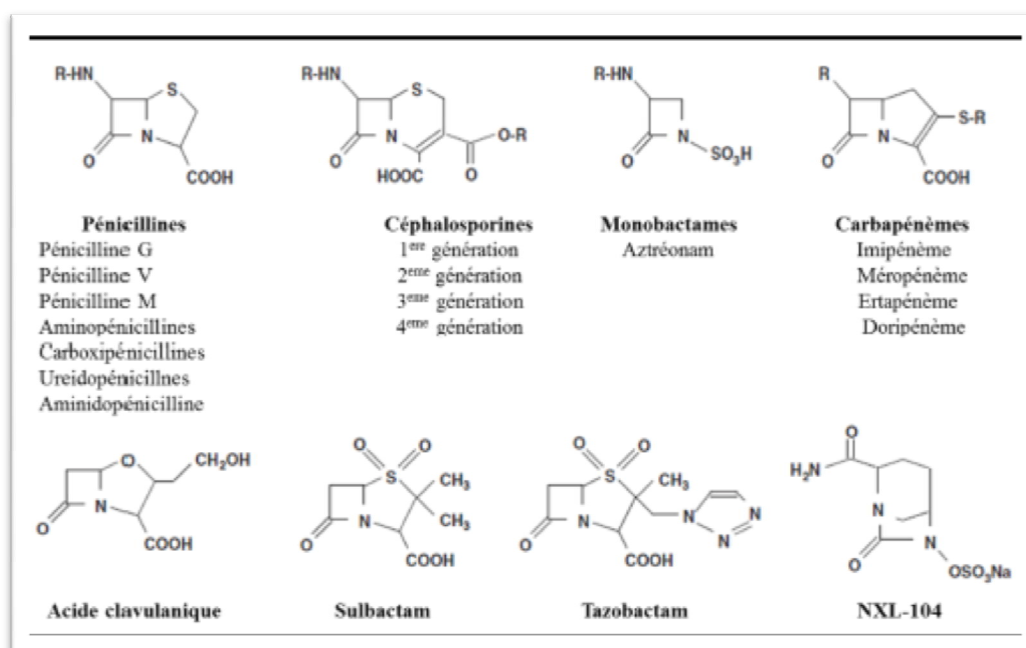


Figure 1 : les structures chimiques des principales β -lactamines et les inhibiteurs des β -lactamases cliniquement disponible (Nordmann et al., 2012).

- **Pénames :**

La classe des pénicillines est composée d'un grand groupe de composés bicycliques pénames qui diffèrent par la nature du radical fixé sur le carbone 6 (Gallagher et MacDougall, 2011) et se répartissent en six sous-groupes.

- Groupe 1: la benzylpénicilline et ses formes parentérales à longue durée d'action.
- Groupe 2: les pénicillines absorbées par voie orale similaire à la benzylpénicilline.
- Groupe 3: les isoxazolpénicillines, des pénicillines qui sont relativement stables pour les β -lactamases, mais qui n'ont pas d'activité utile contre les bacilles à Gram négatif, plusieurs sont structurellement liées.
- Groupe 4: se sont des composés avec une activité élevée contre certains bacilles à Gram négatif, y compris de nombreuses entérobactéries et de *Haemophilus influenzae*, mais qui sont inactives par les staphylocoques et beaucoup de β -lactamases de la famille des entérobactéries.

- Groupe 5: pénicillines actives contre *Pseudomonas aeruginosa*. Il s'agit notamment de carboxypenicillines (et leurs esters absorbés par voie orale) et les dérivés d'ampicilline.
- Groupe 6: pénicillines résistantes aux β -lactamases de la famille des entérobactéries (Finche et al., 2010).

- **Céphèmes :**

Les céphalosporines se distinguent chimiquement des pénicillines par le remplacement du cycle thiazolidine par un cycle dihydrothiazine (Gallagher et MacDougall, 2011). Elles sont classées en fonction de leur date d'apparition, qui correspond à chaque fois à l'acquisition de nouvelles propriétés.

- **Céphalosporines de première génération (C1G) :**

Relativement résistantes aux pénicillines, peuvent être ainsi actives sur des souches résistantes aux pénicillines à large spectre. Détruites par les céphalosporinases de nombreux bacilles à Gram négatif.

Exp: Cefaclor, Cefadroxil, Cefalexine, Cefapirine, Cefatrizine, Cefazoline, Cefradine.

- **Céphalosporines de deuxième génération (C2G) :**

Elles se distinguent des C1G par une relative résistance à certaines céphalosporinases et un léger gain d'activité sur les souches sensibles.

Exp: Cefoxitine, Cefotetan, Cefuroxime.

- **Céphalosporines de troisième génération (C3G) :**

Elles ont une meilleure activité que les C2G sur les souches sensibles et une résistance accrue à l'inactivation par les céphalosporinases.

Exp: Ceftizoxime, Ceftriaxone, Cefotaxime, Ceftazidime.

- **Céphalosporines de quatrième génération (C4G)**

Elles restent actives chez les entérobactéries ayant acquis une résistance aux C3G par hyperproduction d'une céphalosporinase, et inactives en cas de β -lactamases à spectre étendu (BLSE).

Exp: Cefepime, Cefpirome (Cavallo et al., 2004).

- **Carbapénèmes :**

Les carbapénèmes présentent un cycle de base qui diffère de celui des pénicillines par la présence d'une double liaison et d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1 (Gallagher et MacDougall, 2011). Ils présentent un spectre d'activité plus large en comparaison avec la pénicilline, les céphalosporines et les associations β -lactamines/ β -lactamases. En général, les carbapénèmes ayant différentes activités antibactériennes. L'imipénème, le méropénème et le doripénème sont efficaces contre les bactéries à Gram

positif, tandis que, l'ertapénème, le meropénème, le biapénème et le doripénème étaient un peu efficace contre les bactéries à Gram négatif (El-gamal *et al.*, 2017).

- **Monobactames :**

Le noyau des monobactames est limité au cycle β -lactame (Cavallo *et al.*, 2004). Les premiers monobactames ont été isolés de substances naturelles produites par *Chromobacterium violaceum*, mais les produits récents sont entièrement synthétiques. Le seul produit utilisé actuellement est l'aztreonam qui a une forte activité contre les bactéries aérobies à Gram négatif, mais il est pratiquement inactif contre les bactéries à Gram positif et les anaérobies (Cavallo *et al.*, 2004).

- **La fosfomycine :**

La fosfomycine inhibe la synthèse de la paroi bactérienne par action sur la pyruvyl transférase, impliquée dans l'une des premières réactions de la synthèse du peptidoglycane. Cette étape étant intracytoplasmique, la pénétration de la fosfomycine à l'intérieur de la bactérie est nécessaire à son activité. (Gualerzi *et al.*, 2013).

La fosfomycine modifie de façon covalente l'enzyme MurA, une protéine essentielle nécessaire à la synthèse de l'acide N-acetylmuramique l'un des constituants de peptidoglycane de la paroi bactérienne (Gualerzi *et al.*, 2013).

- **Glycopeptides :**

Les glycopeptides sont une famille d'antibiotiques à structure complexe comprenant notamment la vancomycine, la téicoplanine et la ristocétine. Bactéricides, ces médicaments tuent les bactéries auxquelles ils s'attaquent.

Les molécules se lient au dipeptide terminal D-ala-D-ala du peptidoglycane. Cette fixation de type clé-serrure empêche le fonctionnement normal des transpeptidases et des transglycosylases, entraînant l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane et secondairement la mort de la bactérie. Leur volume important les empêche d'emprunter les porines de la membrane externe et ne peuvent donc atteindre le peptidoglycane par voie de polymérisation, ce qui explique qu'ils soient inactifs contre les bactéries Gram négatif (Nauciel et Vildé, 2008).

III.1.2.2 Antibiotiques agissant au niveau de la membrane cytoplasmique

- **Les polymyxines :**

L'antibiotique le plus utilisé est la Colistine. Elle n'agit que sur les bacilles à Gram négatif en se fixant sur les membranes, et elle les désorganise, provoquant ainsi une perméabilité membranaire. La bactérie se vide de ses composants cytoplasmiques vitaux et meurt (Garnacho-Montero *et al.*, 2003 ; Alami *et al.*, 2005).

Divers facteurs, y compris la phase de croissance et la température d'incubation, peuvent modifier l'équilibre des acides gras au sein de la membrane cellulaire des bactéries, ce qui peut en même temps avoir une incidence sur la réponse aux polymyxines (**Finche et al., 2010**).

III.1.2.3 Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

Plusieurs familles d'antibiotiques peuvent inhiber, par différents mécanismes, l'élongation de la chaîne polypeptidique chez les bactéries.

Cependant, la grande majorité de ces antibiotiques est bactériostatique, à l'exception des aminosides qui sont bactéricides (**Page et al., 1999 ; Nauciel et Vildé, 2008**).

a. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome

➤ **Aminosides :**

Le premier antibiotique de cette famille est la streptomycine. Les plus employées actuellement sont la gentamicine et la netilmicine. Ces antibiotiques se distinguent par leur capacité à résister aux différentes enzymes pouvant les inactiver. Ils peuvent être toxiques pour les fonctions auditives ou vestibulaires et pour les fonctions rénales (**Nauciel et Vildé, 2008**). Ils inhibent l'initiation de la réplication de l'ADN et interviennent à plusieurs stades de la synthèse protéique, en se fixant sur des sites divers des sous-unités 30S des ribosomes bactériens et induisent des erreurs de lecture du codon et la synthèse de protéines anormales. Ils inhibent aussi la fixation du complexe ARNt-AA au complexe ribosome-ARNm (**Moulin et Coquerel, 2002**).

➤ **Tétracyclines**

Elles sont éliminées par voie biliaire et urinaire, et restent actives sur certaines bactéries à développement intracellulaire comme les *Brucella*, *Chlamydia*, *Mycoplasma* et *Rickettsia* (**Nauciel et Vildé, 2008**). Elles inhibent la synthèse protéique en se liant de façon réversible à la sous-unité 30S du ribosome. Cette fixation inhibe celle de l'aminoacyl-ARNt et bloque l'étape de reconnaissance de la phase d'élongation de la chaîne peptidique (**Page et al., 1999**). Les tétracyclines sont utilisées contre les maladies respiratoires chroniques, la colibacillose, la mycoplasmosse (**Villate, 1997 ; Mogenet et Fedida, 2004**).

b. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome

➤ **Chloramphénicol**

Cet antibiotique est très actif pour le traitement de la fièvre typhoïde. En raison de sa toxicité (risque d'aplasie médullaire mortelle), il n'est plus commercialisé et il perturbe la

synthèse protéique en inhibant la peptidyl-transférase dans la sous-unité 50S (**Nauciel et Vildé, 2008**).

Il entraîne ainsi un blocage de l'élongation de la chaîne peptidique et donc du cheminement des ribosomes le long de l'ARNm. La libération du polypeptide synthétisé en fin de lecture de l'ARNm est également bloquée (**Neal, 2007**).

➤ **Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)**

Les MLS inhibent la synthèse protéique en se fixant sur l'ARN ribosomal 23S de la sous-unité 50S. Ils provoquent la dissociation du peptidyl-ARNt, ce qui inhibe l'étape de transpeptidation des chaînes peptidiques en croissance (**Nauciel et Vildé, 2008**).

Les Streptogramines sont formées de deux molécules agissant de manière synergique, ce qui leur permet d'exercer une action bactéricide (**Nauciel et Vildé, 2008**).

Chez le poulet, ces molécules sont très bien tolérées et sont indiquées lors de MRC, mycoplasmoses, coryza infectieux et arthrites staphylococciques chez les poules futures reproductrices (**Villate, 1997 ; Mogenet et Fedida, 2004**).

c. Antibiotique inhibant le facteur d'élongation G

La synthèse protéique serait inhibée par la formation d'un complexe stable avec le facteur d'élongation diphosphate et le ribosome. La phase d'élongation est ainsi bloquée et par voie de conséquence la translocation est arrêtée (**Tankovic et Duval, 2007**).

C'est le mode d'action de l'acide fusidique, actif sur les cocci et les bacilles à Gram positif. Il est utilisé principalement dans les infections à staphylocoques (**Nauciel et Vildé, 2008**).

III.1.2.4 Antibiotiques inhibiteurs du métabolisme des acides nucléiques

➤ **Les sulfamides et triméthoprime**

Ces antibiotiques sont des analogues de l'acide para-amino-benzoïque. L'effet sélectif des sulfamides sur les bactéries est dû à leur effet inhibiteur sur la formation de l'acide folique en inhibant la dihydroptéroate synthétase. Les sulfamides étaient montrés comme interférant avec l'acide folique par sa similitude structurelle avec l'acide para-aminobenzoïque (**Skold, 2006**). Ils agissent comme des inhibiteurs compétitifs de dihydroptéroate synthétase, une enzyme impliquée dans la synthèse du folate (**Gualerzi et al., 2013**).

Le triméthoprime est surtout utilisé en association avec un sulfamide, en agissant à deux niveaux différents de la synthèse des folates, ce qui leur assure un effet synergique (**Nauciel et Vildé, 2008**). Le triméthoprime inhibe la synthèse des folates en inhibant la dihydrofolate

réductase bactérienne, conduisant à l'arrêt de la biosynthèse de l'ADN bactérien (**Sköld, 2001 ; Neal, 2007**).

➤ **Les quinolones**

Les quinolones exercent leur effet en inhibant l'action des topoisomères de type II: l'ADN gyrase et la topoisomérase IV. Ces enzymes sont indispensables à la croissance bactérienne en contrôlant la topologie de l'ADN lors des étapes de réplication, de transcription, et de recombinaison/réparation de l'ADN. Ces enzymes tétraédriques, homologues entre elles, sont composées de deux sous-unités GyrA et GyrB (ADN gyrase) ou ParC et ParE (topoisomérase IV) (**Nauciel et Vildé, 2008**).

En empêchant le "supercoiling" du chromosome bactérien, les quinolones altèrent rapidement la réplication de l'ADN, induisant la mort de la bactérie (**Tankovic et Duval, 1997 ; Neal, 2007**).

➤ **Nitrofuranes et Nitro-imidazoles**

Ils ont le même mode d'action, leur activité nécessite la réduction du groupement NO₂. Cette dernière est effectuée au niveau du cytoplasme par des nitro-réductases des bactéries anaérobies et micro-aérophiles, libérant ainsi des radicaux libres toxiques capables d'oxyder l'ADN bactérien et de le couper (**Nauciel et Vildé, 2008**).

III.1.3 Antibiotiques en élevages

En élevage de rente, les antibiotiques ont tout d'abord une utilisation thérapeutique visant l'éradication d'une infection présente - antibiothérapie curative - ou la prévention d'une infection possible, à un moment de la vie de l'animal où l'apparition d'infections bactériennes est considérée comme très probable ou, à l'occasion d'un transport, vaccination, stress, etc,...- antibiothérapie prophylactique. À côté de cette utilisation thérapeutique, on trouve une utilisation propre à l'élevage de rente au cours de laquelle les antibiotiques sont utilisés comme promoteurs ou facteurs de croissance; c'est l'usage zootechnique (**Rahal et al., 1999**). Mais en Algérie les antibiotiques utilisés comme facteurs de croissance ne sont plus incorporés dans l'alimentation animale et sont interdits d'utilisation depuis avril 2007 par une décision interministérielle le 24 décembre 2006 (**Rahal et al., 1999**).

On estime que 90% des antibiotiques produits dans le monde est destinés aux animaux (27.000 t/an) seraient distribués par l'aliment, tous usages confondus (facteurs de croissance, préventif, curatif). Ils sont utilisés à 20% chez les volailles (**Yalla et al., 2001**).

Les antibiotiques sont la seconde classe de médicaments utilisés en médecine vétérinaire. Ils représentent environ 20% du volume des produits pharmaceutiques vétérinaires utilisés (**Yalla et al., 2001**).

Les antibiotiques suspendus de l'homologation sont : les nitrofurantoines, le chloramphénicol et la gentamicine. Ces antibiotiques sont cependant testés en laboratoire dans le cadre de la surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (**Rahal et al., 1999**).

III.2. Aperçu sur l'antibiorésistance

III.2.1. Historique

Dès le début de l'utilisation clinique des antibiotiques, des souches bactériennes résistantes à ces molécules sont apparues. En 1940, avant même que la pénicilline n'ait été largement utilisée en thérapeutique, Abraham et Chain attirent l'attention sur le fait que *Bacterium coli* inactive la pénicilline G en produisant une enzyme dénommée la pénicillinase (**Abraham et Chain, 1940**). En effet, Fleming lançait déjà un avertissement face à une utilisation excessive de la pénicilline dès 1945 lors de son discours d'acceptation du prix Nobel.

Pour chaque nouvelle classe d'antibiotiques développée et commercialisée, des souches bactériennes résistantes ont émergé. Ce phénomène a été amplifié par l'utilisation abusive des antibiotiques depuis un demi-siècle. En effet, des consommations élevées et un mésusage de ces molécules sont à l'origine de l'émergence et de la diffusion de résistances (**Abraham et Chain, 1940**).

III.2.2 Définition

La résistance à un ATB est considérée comme étant la capacité d'une bactérie de survivre à une concentration définie de cette molécule (**Nauciel et Vildé, 2008**). Selon Schwarz et Chalus-Dancla (2001), une bactérie est considérée comme résistante à un antibiotique quand la concentration de ce dernier au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la multiplication de cette bactérie ou pour la tuer.

III.2.3. Les différents types de résistance

a. Résistance naturelle

La résistance naturelle est un caractère stable, transmis à la descendance, et qui est dû à la présence de gènes chromosomiques, commun à toutes les souches de la même espèce

ou d'un même genre bactérien. Ce caractère détermine les phénotypes sauvages des espèces bactériennes vis-à-vis des antibiotiques (**Yalla *et al.*, 2001 ; Courvalin, 2008**).

b. Résistance acquise

La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, soit par :

- Mutation sur le chromosome transmissible à la progéniture mais non transmissible horizontalement.
- Acquisition du gène de résistance exogène portée par les plasmides, ou des éléments génétiques mobiles, permettant ainsi une transmission verticale à la descendance mais aussi une transmission horizontales mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation (**Poyart, 2002**).

c. Résistance croisée et Co-résistance

La résistance à un antibiotique peut, parfois, conférer de la résistance à un autre antibiotique. La résistance croisée résulte d'un seul mécanisme biochimique et concerne des antibiotiques appartenant à la même famille (**Courvalin, 2008**).

La co-résistance est liée à plusieurs mécanismes (plusieurs gènes de résistance impliqués) et concerne des antibiotiques appartenant à différentes familles, ce qui entraîne un large phénotype résistant de la bactérie hôte (**Courvalin, 2008**).

III.2.4. Mécanismes de résistance

Pour échapper à l'action létale des antibiotiques, les bactéries sollicitent de très nombreux mécanismes biochimiques de résistance (naturelle ou acquise), associés à une grande ingéniosité génétique pour les acquérir et les diffuser. On peut classer les mécanismes de résistance aux antibiotiques en 4 groupes.

a. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Par ce mécanisme, la bactérie acquiert la capacité d'inactiver l'action des antibiotiques par la sécrétion d'enzymes avant même qu'ils n'aient pénétrés au sein du microorganisme (**Abdennebi, 2006**). C'est le mécanisme le plus important quantitativement et qualitativement (**Alami *et al.*, 2005**).

b. Modification de la cible

La liaison de l'antibiotique à sa cible est inhibée par une reprogrammation ou camoufflage de cette dernière. La molécule ne la reconnaît plus et devient inactive. Ce phénomène est dû à des bactéries qui ont la capacité de mutation d'un gène responsable de la biosynthèse de la protéine sur laquelle agit l'antibactérien (**Abdennebi, 2006**).

c. Diminution de la perméabilité

Des mutations peuvent entraîner la perte de certaines porines ou leur altération et de ce fait entraver la pénétration de l'ATB et peuvent entraîner la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques simultanément : β -lactamines, aminosides, et quinolones (**Nauciel et Vildé, 2008**).

d. Excrétion par efflux

L'antibiotique rentre dans la bactérie mais avant qu'il puisse se fixer sur sa cible il sera excrété vers l'extérieur de la bactérie par les protéines membranaires qui forme le canal (**Alami et al., 2005**). Les ATB exerçant leur action sur des cibles cytoplasmique seront les plus touchés (**Croize, 2005**).

III.2.5. Impact de la résistance aux antibiotiques

Cette résistance a des conséquences médiatees et immédiates : L'échec thérapeutique est la conséquence pratique majeure, diffusion de la résistance, l'apparition de souches multi-résistantes et de bactéries transmises par les aliments et résistantes aux antimicrobiens et qui peuvent causer des infections au sein de groupes de populations sensibles (**Abdennebi, 2006**).

III.2.6 Résistance des entérobactéries

a. Résistance des entérobactéries aux bêta-lactamines

Ces résistances sont liées à un défaut d'accumulation au contact de la cible (les protéines liant les pénicillines ou PLP) suite à une imperméabilité ou un efflux de l'antibiotique, à des modifications des PLP ou à la production d'enzymes inactivatrices appelées bêta-lactamases (**Courvalin et Bingen, 2006**).

En général, les colibacilles sont classés parmi les entérobactéries naturellement sensibles à plusieurs antibiotiques. Cependant, l'acquisition de résistance est couramment enregistrée parmi ces germes. Cette acquisition se fait soit par sélection de mutants résistants ou par incorporation de plasmides ou de matériel génétique exogène codant pour des résistances particulières (**Courvalin et Leclerq, 2012**).

b. Résistance des entérobactéries aux aminosides

L'utilisation des aminosides a contribué à la sélection de souches résistantes par différents mécanismes incluant la modification enzymatique de l'antibiotique qui est le mécanisme de résistance le plus fréquemment observé, la diminution de la perméabilité membranaire, l'altération structurale de la cible ribosomale et l'expulsion de l'antibiotique par système d'efflux. Le déterminisme génétique est souvent plasmidique (**Kumar et Schweizer, 2005**).

c. Résistance des entérobactéries aux Quinolones

Les mécanismes de résistance aux quinolones chez les entérobactéries résultent essentiellement de la modification de la cible par l'accumulation de mutations dans l'ADN gyrase puis dans l'ADN topo-isomérase IV qui sont la cible des quinolones, et d'une diminution de la concentration intracellulaire de ces antibiotiques, par imperméabilité membranaire et/ou surexpression des systèmes d'efflux, et l'inactivation enzymatique par l'acquisition d'acétylase (**Demoré, 2018**).

Le déterminant génétique de cette résistance est le gène « qnr » qui, depuis, qu'il a été identifiés chez différentes espèces d'entérobactéries et sont souvent associés à la production de bêtalactamases à spectre élargi (**Demoré, 2018**).

d. Résistance aux tétracyclines

Le mécanisme le plus étudié est l'expulsion de l'antibiotique par système d'efflux, le deuxième mécanisme est la modification de la cible, ainsi que la production d'enzymes de modification des tétracyclines sous formes inactivées (**Demoré, 2018**).

e. Résistance aux sulfamides

Un des mécanismes de résistance aux sulfamides est la modification de la cible qui devient moins affine avec les antibiotiques de la famille (**Demoré, 2018**).

f. Résistance à la colistine

Elle s'effectue par l'imperméabilité membranaire qui bloque le passage de l'antibiotique (**Demoré, 2018**).

i. Résistance aux macrolides

La résistance aux macrolides est portée par trois principaux mécanismes: la modification de la cible, la perméabilité membranaire par la pompe à efflux et l'inactivation enzymatique (**Demoré, 2018**).

III.3. Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

III.3.1. Définition

Les BLSE ont été décrites pour la première fois en 1983, en Allemagne (**Knothe et al., 1983**), il n'y a pas de consensus concernant la définition de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Classiquement, les BLSE sont définies comme des enzymes appartenant à la classe A (À l'exception des BLSE de type OXA classe D) de la classification d'Ambler, capables d'hydrolyser les pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (céfépime ou ceftiprome) et l'aztréonam. Elles sont inhibées in vitro par les inhibiteurs des β -lactamases (acide clavulanique, tazobactam et sulbactam) (**Livermore, 2003**). Par contre, les BLSE sont sensibles aux céphamycines (céfotétan et cefoxitine) ainsi qu'aux carbapénèmes. Une co-résistance avec les aminosides, les tétracyclines et les fluoroquinolones est fréquente.

Les bactéries possédant des BLSE sont dites multirésistantes (**Paterson et Bonomo, 2005**).

Il s'agit d'un mécanisme de résistance de type plasmidique, et donc transmissible à d'autres bactéries. La présence de ce -type de mécanisme de résistance au sein de souches pathogènes fait peser un risque majeur d'inadéquation thérapeutique et donc d'échec thérapeutique (**Schwaber et Carmeli, 2007**), et est également un facteur de diffusion.

Au sein des entérobactéries, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont les deux espèces les plus fréquemment porteuses de ces mécanismes de résistance. Toutefois, ces enzymes ont été retrouvées au sein de nombreuses autres espèces bactériennes, entérobactéries et bacilles non fermentants (tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*) (**Jacoby, 2009**).

III.3.2. Différents types de BLSE

Elles sont classées selon leurs types moléculaires, les plus fréquents étant les types TEM, SHV, CTX-M (**Jacoby, 2009**).

a. BLSE de type TEM (Temoneira - nom du patient) :

La première β -lactamase plasmidique de type TEM (TEM-1) a été isolée en 1965, en Grèce, à partir d'une souche d'*E. coli* isolée chez une patiente nommée Temoneira, d'où la nomination (**Datta et Kontomichalou, 1965**).

La majorité des BLSE de ce type dérivent par quatre à sept mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1 ou TEM-2) (**Bradford, 2001**). Ces mutations rendent l'enzyme capable d'hydrolyser les C3G, mais aussi plus vulnérable à l'action des inhibiteurs (acide clavulanique).

Cependant, d'autres mutations peuvent conférer la résistance aux inhibiteurs. Ces variantes sont appelées TRI (TEM résistantes aux inhibiteurs). Les enzymes dérivées par mutations permettant d'hydrolyser à la fois les C3G et les inhibiteurs sont de plus en plus fréquentes (**Bradford, 2001**). Actuellement, il y a plus de 210 enzymes TEM ont été décrits (<http://www.lahey.org/studies/>).

b. BLSE de type SHV : (Sulphydryl variable)

Les enzymes BLSE de type SHV dérivent par mutations ponctuelles de l'enzyme originale SHV-1 qui correspond à un gène *blaSHV* de pénicillinase chromosomique de *K. pneumoniae* (**Brisse et Verhoef, 2001 ; Haeggman et al., 2004**). Actuellement, plus de 180 variants SHV BLSE ont été décrits (<http://www.lahey.org/Studies/>).

La majorité des BLSE de type SHV ont été décrites chez les souches de *K.pneumoniae*, toutefois ces enzymes ont été trouvées chez *Citrobacter freundii*, *C. diversus*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae* (**Bradford, 2001**). Ainsi, ces enzymes sont aussi présentes chez les espèces de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp.* La présence de la séquence d'insertion IS26 sur le gène SHV faciliterait l'acquisition du phénotype BLSE (**Hammond et al., 2005**).

c. BLSE de type CTX-M (Céfotaximase-Munich) :

Les BLSE de type CTX-M ont été décrites initialement en 1986 (FEC-1) au Japon, Allemagne et France en 1989 (CTXM-1) et ont depuis lors disséminé largement dans le monde (**Livermore et al., 2007**).

Ces « nouvelles » enzymes représentent à l'heure actuelle les BLSE les plus fréquentes au niveau mondial après leur diffusion rapide depuis les années 90. Le groupe CTX-M (pour céfotaximase) confère à l'origine, chez les entérobactéries, un plus haut niveau de résistance au céfotaxime (ou ceftriaxone), céfépime et aztréonam qu'à la ceftazidime. Certaines d'entre elles ont évolué plus récemment par mutation (ponctuelle ou non) générant un haut niveau de résistance à la ceftazidime telles les enzymes CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-19, CTX-M-23 et CTX-M-32. Les CTX-M sont plus fortement inhibées par le tazobactam que par l'acide clavulanique (**Livermore et al., 2007**).

Récemment, plus de 150 variants CTX-M ont été décrits (<http://www.lahey.org/Studies/>) et ont été classés en 6 groupes phylogénétiques : le groupe CTX-M-1 avec M-1, 3, 10, 11, 12, 15, 22, 23, 28, 29 et 30 ; le groupe CTX-M-2 avec M-4, 5, 6, 7, 20, et Toho-1 ; le groupe CTX-M-8 avec CTX-M-8, CTX-M-40 et CTX-M-63 ; le

groupe CTX-M-9, avec M-13, 14,16, 17, 18, 19, 21, 27, le groupe CTX-M-25 avec CTX-M-26 et enfin le groupe CTX-M-45.

Ces nouvelles BLSE ne sont pas étroitement liées aux β -lactamases de type TEM ou SHV puisqu'elles ne présentent que 40 % d'homologie avec ces BLSE classiques (**Elhani, 2012**).

Les analyses génétiques ont montré que les gènes progéniteurs appartiennent au **genre *Kluyvera***, entérobactéries d'isolement très rare en bactériologie médicale (**Livermore et al., 2007**). La β -lactamase naturelle de *Kluyvera cryocrescens* (KLUC-1) présente 95 à 100 % d'identité avec les enzymes plasmidiques du phylum CTX-M-1 (**Decousser et al., 2001**).

Ainsi le phylum CTX-M-2 dérive de la β -lactamase naturelle de *Kluyvera ascorbata* (codé par le gène *blaKLUA*) alors que le phylum CTX-M-8 vient de *K. georgiana* (codé par le gène *blaKLUG*) (**Poirel et al., 2002**), cette espèce serait également à l'origine du groupe 9 (**Olson et al., 2005**).

La dissémination horizontale des gènes codant pour les enzymes CTX-M s'effectue via des plasmides conjugatifs mais aussi via d'autres éléments génétiques comme les intégrons et les séquences d'insertion ISEcp1 (**Bradford, 2001**).

d. Autres types de BLSE :

D'autres BLSE ont une distribution moins large, caractérisées par un haut niveau de résistance à la ceftazidime et parfois à l'aztréonam plutôt qu'au céfotaxime (**Bradford, 2001**), qui sont individualisées en BES-1 (*brazilian extended spectrum*), GES-1 (*Guyana extended spectrum*), PER-1 (*Pseudomonas extended resistance*) (Weldhagen et al. 2003), SFO-1 (*Serratia fonticola*), TLA-1 (Tlahuicas, tribu mexicaine), et VEB-1 (*Vietnam extended spectrum*). Des enzymes proches de GES-1 ont été découvertes en Grèce, malheureusement dénommées à tort IBC (*integron borne cephalosporinase*) (IBC-1, IBC-2) (**Philippon et Arlet, 2006**).

En fin, l'OXA-1 qui a une grande activité catalytique pour la cloxacilline, l'oxacilline et la méticilline.

Materiel et methodes

Chapitre 2 : partie expérimentale

I. Matériel et méthodes

I.1. Objectif de l'étude

Les mammites subcliniques sont un véritable fléau dans nos élevages bovins laitiers, dans ce contexte l'objectif de cette étude a été de contribuer à l'actualisation des données épidémiologiques sur l'infection intramammaire à *E.coli* en Algérie et ceux par :

L'actualisation du taux de prévalence de l'infection chez la vache laitière;

La mise en évidence de son impact sur la quantité et la qualité du lait;

L'évaluation des résistances aux antibiotiques inclus dans les schémas thérapeutiques;

Ainsi la recherche et la caractérisation phénotypique et génotypique des isolats d'*E.coli* producteurs de b.lactamase à spectre élargi.

I.2. Présentation de la zone et période du travail

L'étude s'est déroulée pendant une période s'étalant de 2017 jusqu'à 2020, dans la région centre de l'Algérie, dans la wilaya de Tipaza, au niveau de la ferme SPA agricole DOUMA qui est un élevage bovin et dans la wilaya d'Alger plus précisément à Baba Ali dans la commune de Birtouta, au niveau des deux fermes du CNIAAG et de l'ITELV, ces dernières sont des établissements publics à caractère administratif et à vocation industriel, technique et commercial.

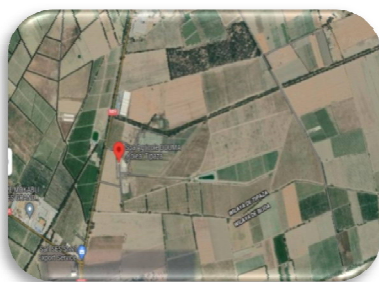


Figure 2: Localisation la ferme SPA agricole DOUMA de Tipaza.

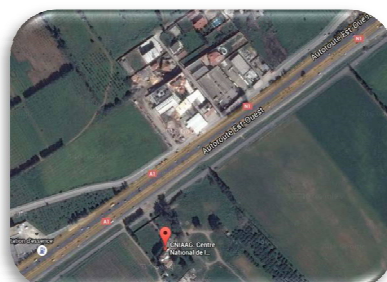


Figure 3: Localisation de la ferme du CNIAAG (www.cniaag.dz).

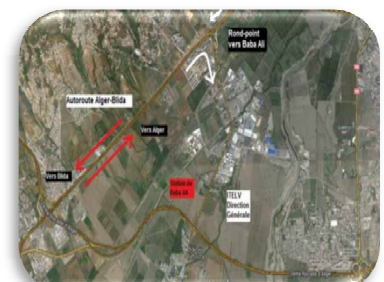


Figure 4: Localisation de la ferme de l'ITELV

Materiel et methodes

I.3. Exploitations laitières

Tableau 3: données sur les exploitations étudiées.

Fermes	Ferme1 (DOMA)	Ferme 2 (CNIAAG)	Ferme3 (ITELV)
Région	Tipaza	Baba Ali dans la commune de Birtouta (Alger)	Baba Ali dans la commune de Birtouta (Alger)
Effectif total	129	179	79
Effectif des VL	90	82	41
Type de stabulation	Semi-entravé / libre	Semi-entravé / libre	Semi-entravé / libre
Hygiène de l'étable	Moyenne	Moyenne	Moyenne
Litière (fq.de renouvellement)	Paille+scillure de bois. 2x/J	Paille+scillure de bois. 2x/J	Paille+scillure de bois. 2x/J
Système de traite	Machine a traite	Machine a traite	Machine a traite
Diagnostic de mammite	Non fait	Occasionnellement	Régulièrement
Durée moyenne du tarissement	2 mois	2 mois	2 mois
Désinfection des trayons avant la traite	Eau + chiffon	Eau tiède+ eau de javel+ chiffon	Eau + chiffon
Hygiène de la machine à traire	Mauvaise	Moyenne	Moyenne

I.4. Échantillonnage et conditions expérimentales

I.4.1. Choix des fermes :

Les fermes ont été choisies en premier lieu , du fait de la coopération de leurs gérants , de leurs vétérinaires et de leurs techniciens ; ce sont également des fermes vouées à la production laitière avec des vaches de race de haute production laitière en utilisant des techniques modernes en production laitière .

I.4.2.Choix des vaches à prélever :

Après mise à l'écart des vaches non aptes à l'expérimentation (malades ou en traitement), toutes les vaches présentes ont été prélevées.

Materiel et methodes

Notre étude a porté sur un effectif de 149 vaches de races différentes (Montbéliarde, Prim'holstein, Fleckvieh, Normande, Brune des Alpes), âgées entre 3 et 7 ans, qui étaient en pleine lactation (du début jusqu'à la fin). De plus, le lait de tank a également été prélevé.

I.4.3. Les prélèvements et les analyses réalisés :

Nous avons effectués 2 à 4 prélèvements à un mois d'intervalle durant différentes périodes de l'année de 2017 à 2020 (un total de 360 prélèvements). Deux types de prélèvements de lait de mélange (concerne les 4 quartiers de chaque vache), ont été réalisés avant la traite du matin après la réalisation du test de CMT : L'un pour l'analyse bactériologique, l'autre prélèvement est consacré à l'analyse physico-chimique du lait (étude de l'acidité, TP et TB).

Pour les prélèvements laitiers destinés aux analyses bactériologiques, nous avons utilisé la méthode classique élaborée par plusieurs auteurs (**Bind et al., 1980**), et nous avons procédé comme suit:

- ✓ Lavage et séchage des trayons ;
- ✓ Désinfection de l'extrémité du trayon avec un tampon de coton imbibé d'alcool à 70° ;
- ✓ Elimination des premiers jets ;
- ✓ Réalisation du test CMT pour rechercher les quartiers malades ;
- ✓ Prélèvement de lait dans des flacons stériles (figure 5) suivant la technique décrite par **Diernoffer** cité par **Dupont (1980)**.



Figure 5 : Prélèvements du lait dans les pots stériles (Photo personnelle).

Materiel et methodes

I.4.4. Diagnostic des mammites subcliniques par le test CMT :

➤ Principe

Lyse des cellules du lait par l'action de l'agent tensio-actif ; qui se manifeste par une viscosité du mélange qui est proportionnel au nombre de cellules.

➤ Technique

Recueillir quelques jets de lait de chaque quartier dans la coupelle correspondante, incliner le plateau afin de ne conserver que la quantité nécessaire à savoir 2ml (jusqu'à ce que le trait horizontal soit visible, ajouter 2ml de réactif ensuite agiter doucement la solution par des mouvements circulaires horizontaux pendant quelques secondes. On note enfin par transparence la présence et l'aspect du flocculat. Après utilisation vider le plateau et rincer l'ensemble à l'eau.

I.4.5. Analyses physico-chimiques du lait

Pour l'analyse physico- chimique, nous avons utilisé pour l'analyse quantitative (mesurer la production laitière) Le compteur à lait Delaval® homologué par ICAR et pour l'analyse qualitative, un appareil - EKOMILK®- (figure 6) qui peut analyser la matière grasse, les protéines et la matière sèche. Cet appareil permet la mesure par ultrasons à plusieurs avantages :

- ✓ Résultats affichés en moins de 90 sec ; sans besoin de la présence de l'opérateur et pour 10 paramètres différents ;
- ✓ Pas besoin de préparation, d'homogénéisation ou de chauffage des échantillons ;
- ✓ Permet de faire un grand nombre de mesures ;
- ✓ Nécessite de petites quantités de lait requises ;
- ✓ Mesure de précision d'ajustement peut être effectué par l'utilisateur ;



Figure 6: EKOMILK (photo personnelle).

Materiel et methodes

❖ Paramètres mécaniques

Cet appareil pèse 4 kg, mesure (L x P x H) 95 x 300 x 250 mm et nécessite quelques conditions environnementales pour bien fonctionner:

- ✓ Température de l'air ambiant 15°C - 30°C et l'humidité relative de 30% - 80% ;
- ✓ Température du lait doit être comprise entre 15°C et 30°C

❖ Mode d'emploi

L'appareil est doté d'une petite tasse en plastique qui doit être rempli suffisamment et placé à l'endroit de prise de la mesure. Il faut Faire attention à ce que le tube d'admission soit plongé dans l'échantillon. La tasse est accrochée à sa position de prise grâce à la goupille en plastique placée à son bord inférieur.

Remplir encore une autre tasse du même lait et on la place à l'endroit de mesure de pH, puis on plonge l'électrode pH et la sonde thermique dans le lait.

Entre chaque passage de prélèvement à l'appareil, nous avons procédé au rinçage des électrodes et la pompe d'extraction ainsi que l'électrode pH et la sonde thermique à l'eau distillée afin d'avoir des résultats les plus fidèles que possible.

La précision de l'appareil a été testée par les méthodes classiques de détermination de la qualité physicochimique du lait à savoir :

- Taux butyreux (TB) (**norme AFNOR, 1985**).

- **principe**

Cette methode est basée sur la dissolution de la matiere grasse à doser par l'acide sulfurique. Sous l'influence d'une force centrifuge et grace a l'adjonction d'une faible quantite d'alcool isoamylique, la matiere grasse se separe en couche claire dont les graduations du butyromètre révèlent le taux.

- **Mode opératoire**

- Introduire 10ml d'acide sulfurique dans un butyromètre de GERBER ;
- Ajouter 11ml de l'échantillon ont évitant de mélanger les liquides ;
- Ajouter 1,5ml d'alcool isoamylique ;
- On ferme le butyrometre a l'aide d'un bouchon, puis on melange jusqu'a la dissolution totale du mélange ;
- Centrifuger à 1200 tours pendant 5 minutes.

- **Expressions des résultats**

Le résultat est exprimé en g/l et la lecture se fait directement sur le butyromètre.

- Taux protéique (TP)

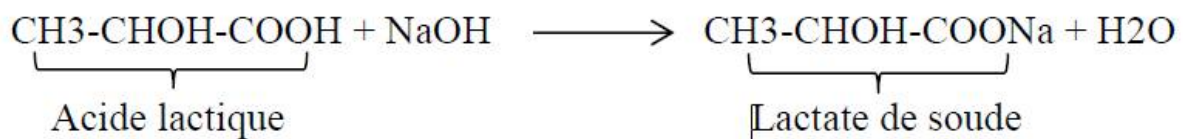
Materiel et methodes

Le principe consiste en une minéralisation du lait par chauffage, en présence de l'acide sulfurique concentré et d'un catalyseur approprié, suivi d'une alcalinisation des produits de la réaction, et d'une distillation de l'ammoniac libéré et qui est recueilli dans une solution d'acide borique peut être titré par une solution d'acide sulfurique 0,1 N.

❖ Acidité titrable

• Principe:

Il s'agit d'un titrage acido-basique, l'acide lactique est neutralisé par une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (N/9) en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré.



• Matériels nécessaires

- ✓ Acidimètre Dornic ;
- ✓ Pipette de 10ml ;
- ✓ Bêcher de 150ml ;
- ✓ Solution de soude NaOH N/9 ;
- ✓ Indicateur phénolphthaléine (solution alcoolisé à 1 %).

• Méthodologie

Nous avons introduit dans un Bêcher 10 ml d'échantillon du lait, auquel nous avons ajouté 2 à 3 gouttes de l'indicateur coloré. Après nous avons titré avec la solution NaOH (N/9) jusqu'à l'apparition d'une couleur rose pâle.

• Lecture

Nous avons lu directement sur l'acidimétrie.

Les résultats sont exprimés en degré Dornic en appliquant la formule suivante :

$$AT = V \times 10(D^\circ)$$

AT: Acidité titrable

V: le volume en ml correspond à la chute de la burette.

I.4.6. Analyse bactériologique

Les analyses bactériologiques ont été réalisées au sein du laboratoire de bactériologie de L'ITELV Baba Ali. Elles ont été effectuées selon les méthodes classiques d'isolement des bactéries les plus fréquentes dans le lait de vache (**Ferney et al., 1966**).

Materiel et methodes

❖ Matériels d'analyses et milieux de culture

a. Appareillages et verreries :

- ✓ Matériel de stérilisation : Four Pasteur, bec Bunsen, autoclave ;
- ✓ Matériel pour préparer les milieux de culture : Balance de précision, plaque chauffante avec agitateur magnétique ;
- ✓ Matériel d'incubation : étuves à 37°C ;
- ✓ Matériel d'homogénéisation : Vortex ;
- ✓ Matériel divers : pipettes Pasteur, erlenmeyer, porte-tubes, boîtes de Pétri, écouvillons, Tubes à essai, seringue.

b. Milieux de culture

- ✓ Bouillon Nutritif (BN) est un milieu d'enrichissement pour les *E. coli* (Institut Pasteur d'Algérie ; Bioscan Algérie);
- ✓ Gélose nutritive, milieu convenant à la culture des bactéries ne présentant pas d'exigences Particulières (Institut Pasteur d'Algérie ; Bioscan Algérie);
- ✓ Gélose TBX est un milieu chromogénique, sélectif et différentiel utilisé pour la détection et le dénombrement des *Escherichia coli* ;
- ✓ Milieu Mueller Hinton (MH) utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme Institut Pasteur Algérie;
- ✓ Galerie API 20 E, BioMérieux, France, pour l'identification biochimique.

c. Les produits de laboratoire et réactifs

- ✓ Eau de javel, alcool 70°, eau distillée stérile, eau physiologique 0,9% ;
- ✓ Huile de vaseline stérile, Institut Pasteur d'Algérie ;
- ✓ Réactif Kovac's, Réactif VP1, Réactif VP2, Réactif TDA (Tryptophane Désaminase), Institut Pasteur d'Algérie;
- ✓ Disques d'antibiotiques présentés dans la figure 7.

Materiel et methodes



Figure 7 : tubes de disques imprégnés d'antibiotiques pour antibiogramme (Photo personnelle).

❖ Isolement et identification d'*E. coli* par méthode classique

Après avoir effectué les prélèvements, les échantillons prélevés sont destinés aux analyses bactériologiques, avant toutes étapes nous avons procédé à :

- La désinfection de la paillasse avec de l'eau de javel ;
- L'allumage du bec bunsen pour travailler dans des conditions stérile.

a. L'enrichissement :

Utiliser le bouillon nutritif (BN) qui est un milieu nutritif tamponné, est utilisé pour la culture d'une très grande variété de microorganismes aérobies ou anaérobies. On prend à l'aide d'une seringue à usage unique 1ml de lait cru qu'on met dans 1ml de bouillon BN, puis les tubes sont incubés à 37°C pendant 24h.

b. Ensemencement et purification :

Les échantillons de lait sont ensemencés à raison d'une goutte de suspension bactérienne dans le tube préalablement enrichi par boîte de pétri sur gélose TBX pour *Escherichia coli*.

Materiel et methodes

L'incubation dure 24 heures à 37° C, on peut rajouter 24 heures supplémentaires si nécessaire. Les colonies considérées comme sélectives sont repiquées sur gélose nutritive afin d'obtenir une culture pure.

c. Identification des isolats

- **Identification morphologique**

- i. Sur le plan macroscopique**

Elle repose sur l'observation de colonies rondes et bombées, brillantes à bord net, de 2 à 3 mm de diamètre, de couleur bleue /bleu-verte sur TBX (figure 7).

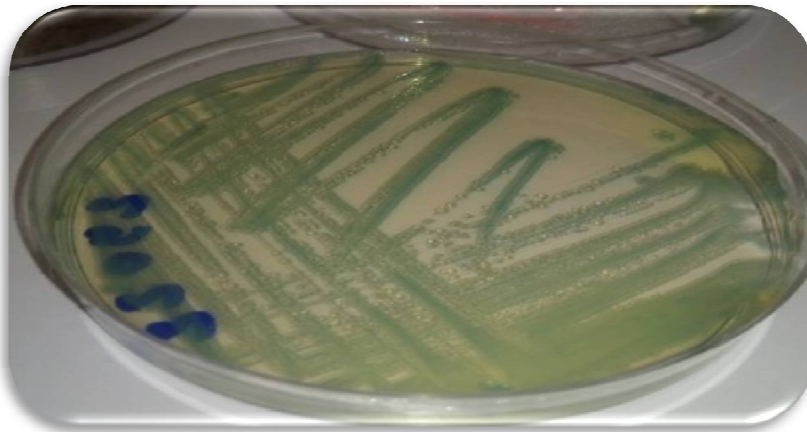


Figure 8 : aspect des colonies d'*E.coli* sur milieu TBX (photo personnelle).

- ii. Sur le plan microscopique**

- **Coloration de Gram**

L'identification est basée sur l'observation microscopique (x 1.000) de bacilles fins, de 0,5 µ de diamètre sur 2 à 3 µ de long, dont la coloration de Gram est négative.

- **Test de catalase**

Il s'agit de déposer, sur une lame de verre propre, une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂), puis de mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette Pasteur ou une anse plastique à usage unique. S'il y a formation de bulles figure 15, la bactérie possède la catalase. L'effervescence est due au dégagement de dioxyde. Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme (**Marchal et al., 1982**).

- **Test d'oxydase**

La recherche d'oxydase est un test fondamental pour orienter l'identification des bacilles à Gram négatif. On utilise comme réactif le chlorhydrate. Des ampoules d'oxydase imprègnent le papier filtre de ce réactif. Sur une lame, on dépose une colonie avec une pipette Pasteur. S'il

Materiel et methodes

Y a apparition d'une tache violette au bout de 30 secondes, on conclut que la bactérie est oxydase + et qu'elle possède le cytochrome oxydase. S'il n'y a rien qui apparaît, la bactérie est oxydase – et ne possède donc pas l'enzyme respiratoire.

Remarque : Il ne faut pas utiliser une anse en métal car elle serait oxydante.

Les colonies qui sont Gram –, catalase + et oxydase – seront identifiées à l'aide d'une galerie API 20E, galerie biochimique qui comprend 20 caractères différents.

➤ Identification biochimique par API 20 E

La galerie comporte 20 cupules contenant des substrats déshydratés. Les cupules sont inoculées avec une suspension bactérienne qui reconstitue le test indiqué par un sigle au-dessus de la cupule. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanément ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (Ahmed et Sabiel, 2016).



Figure 9 : Galerie API 20 E après incubation 18 h à 37°C et après ajout des réactifs (Photo personnelle).

I.4.7. Sérogroupage

Les antisérums *Escherichia coli* sont destinés à l'identification sérologique d'*Escherichia coli* entéropathogènes (EPEC) par la méthode d'agglutination sur lame. Le test repose sur l'agglutination, par des sérums spécifiques, de bactéries possédant les antigènes correspondants.

Un sérotype d'*E. coli* mobile est défini par son antigène O, son antigène H et, s'il existe, son antigène K.

Materiel et methodes

L'identification de l'antigène H nécessite plusieurs jours car il faut rendre la souche très mobile. Elle est donc difficilement réalisable en pratique courante.

Pour des raisons de rapidité, le sérotypage des EPEC se limite donc, en pratique courante, à l'identification de l'antigène O (bien que plusieurs sérotypes O+H, de potentialités pathogènes différentes, peuvent avoir la même spécificité O commune).

Neuf sérogroupes O d'EPEC sont rencontrés en Europe occidentale : 0111 086 0125 055 0119 0126 026 0127 0128 (figure 10, 11,12).



Figure 10 : réactifs navalements *E.coli* EPEC (0111 086 0125 055 0119 0126 026 0127 0128) (Photo personnelle).



Figure 11: réalisation de test de sérologie sur lame (photo personnelle).



Figure 12 : agglutination sur lame (photo personnelle).

I.4.8. Contrôle de qualité

La souche de référence *E.coli* ATCC 25922 a été utilisée pour tester l'efficacité des milieux de culture, des réactifs et des Galeries Api 20E.

I.4.9. Antibiogramme

La sensibilité aux antibiotiques est déterminée par la méthode de l'antibiogramme standard ou la méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Müller-Hinton, Institut Pasteur d'Algérie), selon les normes NCCLS (National Committee For Clinical Laboratory Standards) qui est recommandée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé).

Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe. Le tableau 4. Représente les disques d'antibiotiques utilisés et leurs charges.

Materiel et methodes

Tableau 4: liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme.

Famille	Antibiotiques testés	Charge du disque	Signe	Origine
Béta lactamines	Amoxicilline/AC clavulanique	20/10 µg	AUG 30	Liofilchem, Italie
	Cefotaxime	30 µg	CTX 30	
	Ampicilline Amoxicilline	30 µg 30 µg	AMP 10 AX 10	
Phénicoles	Chloramphénicol	30 µg	C 30	
Polypeptides	Colistine sulfate	10 µg	CS 50	Bioanalyse, France
Aminosides	Gentamicine	10 µg	CN10	
	Kanamicyne	30 µg		
Sulfamides	Triméthoprime-sulfaméthoxazole	25 µg	SXT25	
Cyclines	Tétracycline	30 µg	TE 30	Bio-rad, France
Quinolones	Acide nalidixique	30 µg	NA 30	

a. Technique

La gélose (Mueller Hinton) est coulée la veille en boîtes de Pétri stériles, sur une épaisseur de 4 mm ; les géloses sont séchées avant l'emploi.

b-1. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;

- ✓ Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% ;
- ✓ Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 unité de Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm. Pour notre étude et par commodité, un spectrophotomètre à été utilisé voir figure 11
- ✓ L'inoculum peut être ajusté, en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort ;
- ✓ L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

Materiel et methodes



Figure 13: ajustement de l'opacité de l'inoculum à l'aide d'un spectrophotomètre (photo personnelle).

b-2. Ensemencement

- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- ✓ L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- ✓ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées;
- ✓ Répéter l'opération deux 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 la gélose.

N.B : Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

b-3. Application des disques d'antibiotiques

- ✓ Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques dans une boîte de 90 mm de diamètre.
- ✓ Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre ;
- ✓ Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

Materiel et methodes

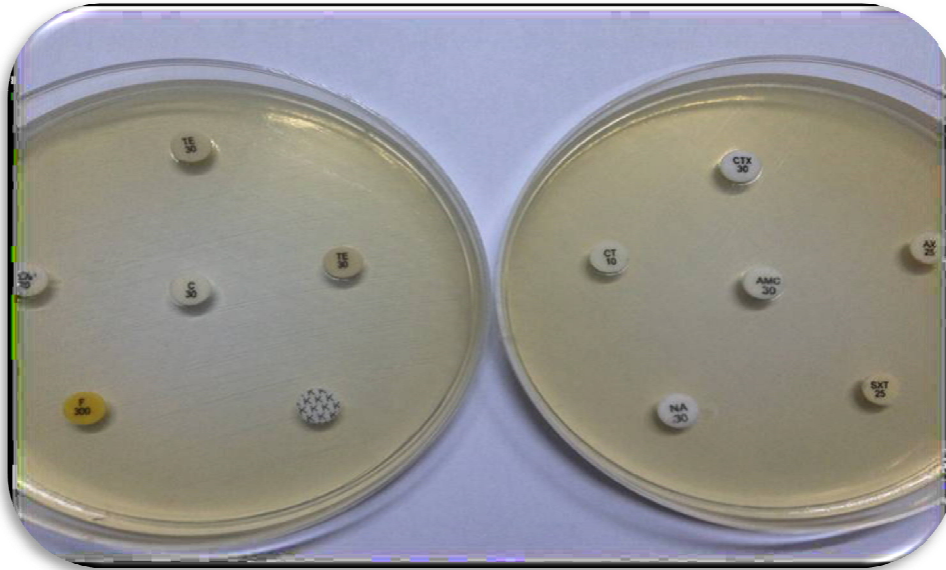


Figure 14: application des disques dans les deux boites de l'antibiogramme (Photo personnelle).

b-4. Incubation

- ✓ 18 heures à 35°C ;
- ✓ La durée d'incubation peut être prolongée dans certains cas : oxacilline, glycopeptides et aminosides.

b. Lecture

- ✓ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée ;
- ✓ Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI des entérobactéries, figurant dans les tables de lecture de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale en médecine humaine et vétérinaire 7 édition (2014) (voir annexe 5) ;
- ✓ Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

I.4.10 Recherche de la β -lactamase à spectre étendu (BLSE) chez les *E.coli*

Les β -lactamases à spectre élargi ou étendu désignent certaines enzymes « β -lactamases » produites par les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter sp.* Ces enzymes codent pour la résistance aux céphalosporines de 3ème génération (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et aux monobactam (aztreonam), mais n'ont aucune activité vis-à-vis des céphamycines (cefoxitine, moxalactam) ni des carbapenemes (imipenème).

Materiel et methodes

a. Méthode de détection de la BLSE

On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes : Cefotaxime (CTX \leq 27mm), ceftazidime (CAZ \leq 22mm), ceftriaxone (CRO \leq 25mm) et aztréonam (ATM \leq 27mm). Voir le tableau 6.

Tableau 5: antibiotiques pour la recherche de souches productrices de betalactamase à spectre élargi.

Famille	Antibiotiques testés	Charge du disque	Signe	Origine
Bétalactamines	Amoxicilline/AC clavulanique	20/10 μ g	AUG 30	Liofilchem, Italie
	Ceftazidime	30 μ g	CAZ30	
	Ceftriaxone	30 μ g	CRO 30	
	Aztreonam	30 μ g	ATM30	
	Cefotaxime	30 μ g	CTX 30	

➤ Test de synergie selon Jarlier et al., (1988)

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Ambler) sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam).

1) Technique pour les Entérobactérie

La recherche de la β -lactamase à spectre élargi se fait dans la condition standard de l'antibiogramme en déposant le disque d'**amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10 μ g)** à 30 mm (centre à centre) d'un disque de céphalosporine de 3 ème génération **cefotaxime (CTX 30 μ g)** ou **ceftriaxone (CRO 30 μ g)**. Incuber 18 heures à 35°C.

Remarque : cette technique permet la mise en évidence des TEM et SHV.

2) Pour les autres BLSE de classe A (CTX-M, CMT, ...)

Le test de synergie doit être fait dans les mêmes conditions standards de l'antibiogramme en incluant les β lactamines suivantes : ceftazidime (CAZ), cefotaxime (CTX) ou ceftriaxone (CRO) et aztréonam (ATM) en raison de l'existence de phénotypes de résistance différents (céfotaximase ou ceftazidimase ...).

Dans notre étude nous avons mis l'Amoxicilline/ Ac clavulanic au centre des quatre disques aztreonam ATM 30, ceftriaxone CRO 30, cefotaxime CTX 30 et ceftazidime CAZ 30.

Materiel et methodes

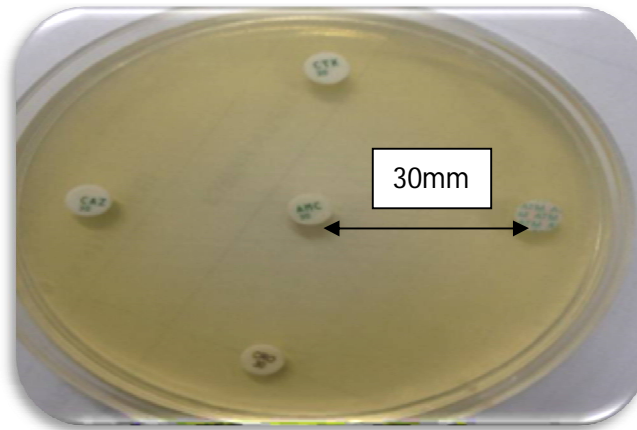


Figure 15: Application des disques pour la recherche de betalactamase.

➤ **Lecture de test de synergie**

La production d'enzyme peut se traduire sur l'antibiogramme classique par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques :

- Amoxicilline+ acide clavulanique et le céfotaxime ;
- Amoxicilline+ acide clavulanique et la ceftazidime ;
- Amoxicilline+ acide clavulanique et l'aztréonam.

En l'absence d'une image de synergie, la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques de céphalosporines de 3^{ème} génération ou de monobactam.

➤ **Test de confirmation du double disque**

Ce test devra être fait systématiquement devant :

- L'absence de synergie avec diminution des diamètres des Céphalosporines de 3^{ème} génération ;
- La présence d'une résistance aux molécules suivantes (ampicilline, ticarcilline, cefazoline avec un diamètre <6mm) par contre l'amoxicilline+acide clavulanique présente un diamètre d'inhibition.

• **Description de la technique**

- ✓ A partir d'une culture de 18H préparer une suspension d'une opacité égale à 0.5 Mc Farland selon la technique de l'antibiogramme.
- ✓ Ensemencer par écouvillonnage la boîte de Mueller Hinton.

Materiel et methodes

- **Application des disques**

- ✓ On dépose un disque d'AMC (20/10 µg) et un disque de céphalosporine de 3ème génération (cefotaxime 30 µg ou ceftriaxone 30µg) à une distance de 30mm (centre à centre) (**figure 16. (a)**).
- ✓ Laisser diffuser les antibiotiques ;
- ✓ La boîte gélosée ensemencée sera déposée le couvercle vers le haut à la température ambiante pendant 1 heure ;
- ✓ Après 1 H d'incubation sur la paillasse (T° ambiante), ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de cefotaxime ou ceftriaxone ;
- ✓ Incuber la boîte 18 H à 35°C.

- **Lecture et interprétation**

- ✓ Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3ème génération appliqué après pré diffusion du disque de l'AMC ou TCC est supérieur ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3ème génération (**figure 16. (b)**).
- ✓ Exp: BLSE, diamètre de la CAZ = 16 mm ; diamètre de l'AMC + CAZ = 21mm.

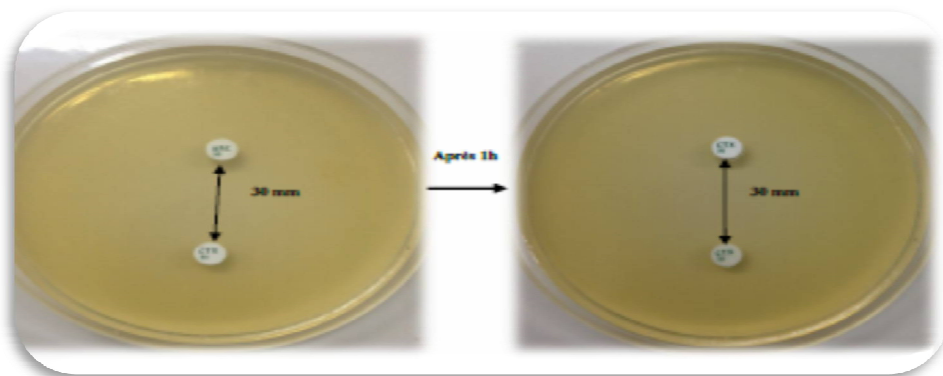


Figure 16 : test double disque

(a). Test double disque, application des deux disques d'AMC (20/10µg) et CTX (30µg) à une distance de 30mm.

(b). Test du double disque remplacement du disque d'AMC par CTX après 1h d'incubation à une température ambiante.

Materiel et methodes

I.4.11. Caractérisation des souches *E.coli* β -lactamases par PCR (Polymerase Chain Reaction)

La partie moléculaire a été faite en collaboration avec le Dr Bernard China, du département d'expertise de l'institut belge de santé, sciensano, Bruxelles.

a. Principe

La technique de réaction de polymérisation en chaîne ou PCR permet d'amplifier en un nombre élevé de copies une séquence particulière d'ADN. La polymérisation se réalise dans un mélange réactionnel contenant de faibles quantités d'ADN possédant la séquence à amplifier, les deux amorces nucléotidiques complémentaires des séquences qui encadrent la cible à amplifier, l'ADN polymérase thermostable (Taq) et un mélange des quatre dNTP (dATP, dTTP, dCTP et dGTP). Elle débute par une étape de dénaturation thermique de l'ADN à amplifier.

Des séquences oligonucléotidiques complémentaires ou amorces sont alors hybridées aux extrémités 3' des deux brins du fragment d'ADN matrice. L'allongement des amorces dans le sens 5'--> 3' est ensuite assurée par la Taq polymérase. Les nouvelles molécules d'ADN ainsi formées sont dénaturées et un nouveau cycle peut commencer, la réaction se répétant ainsi jusqu'à plusieurs dizaines de fois (figure 17).

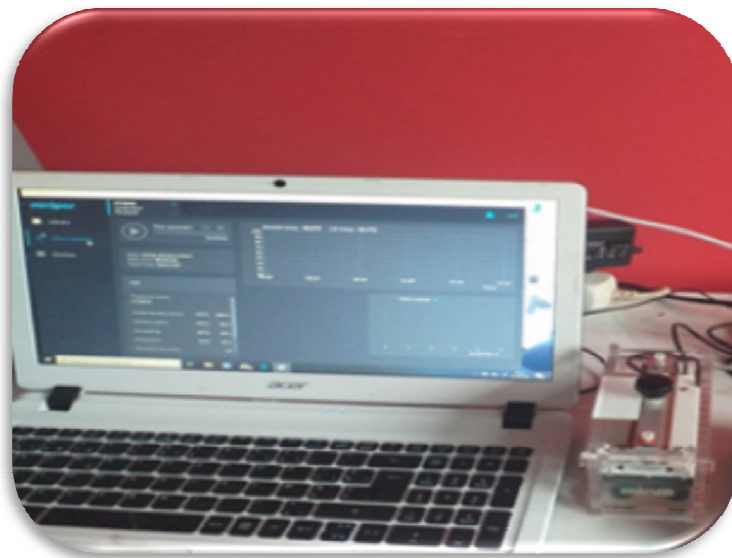


Figure 17 : réalisation de PCR uniplex (photo personnelle).

b. L'extraction de l'ADN total , méthode rapide (boiling).

Identifier l'échantillon par un code sur le dessus d'un tube de 1,5 ml, centrifuger 1 ml de la culture LB pour (incubées toute la nuit à 37°C) à 12 000 tours/mn pendant 2 minutes.

- ✓ Jeter le surnageant dans une bouteille en verre corning réservée à cet usage ;

Materiel et methodes

- ✓ Ajouter 1 ml de FA buffer au culot, bien mélanger (Homogénéiser au vortex) ;
- ✓ Centrifuger à 12 000 tours/mn pendant 2 minutes, enlever le surnageant et suspendre le culot dans 0,5 ml d'eau distillée stérile et homogénéiser (au vortex) ;
- ✓ Chauffer à 100°C pendant 10 minutes, centrifuger à 10000g pendant 2 minutes.
- ✓ Transférer le surnageant contenant l'ADN dans un autre tube et identifier le tube.
- ✓ Conserver l'échantillon d'ADN à -20°C jusqu'à son utilisation.

c. Réalisation de la PCR *ctx M*

L'amplification a été faite en ajoutant 2 µl d'ADN dilué avec 18 µl de Mix dans des microtubes de 0,2 ml, les témoins négatifs c'est le MIX. Les amorces utilisées sont : *bla*-CTX-M-F 5'-ACCGCCGATAATTCGCAGAT-3' et *bla*-CTX-M-R 5'-GATATCGTTGGTGGTGCCATA -3 (Tabar et al., 2016). La composition du mélange des réactifs « le MIX », est présentée dans le tableau 6 :

Tableau 6: la composition du mélange des réactifs « le MIX ».

Réactifs	Volume pour l'échantillon
PCR mix 5 fois (miniPCR, USA)	4 µl
Primer F 40 µM	0.2 µl
Primer R 40 µM	0.2 µl
Amorce F 100µM	4 µl
Eau stérile	13.6 µl
Total	18 µl

Les cycles de températures pour les PCR *ctx-M* sont présentés dans le tableau 8, Le thermocycler (MiniPCR, Cambridge, MA, USA).

Tableau 7 : les cycles de la PCR *ctx-M*.

Température	Durée	Répétition
94°C	5 mn	1 fois
94°C	30 sec	40 fois
58°C	30 sec	
72°C	30 sec	
72° C	7 mn	1 fois

Materiel et methodes

d. Électrophorèse sur gel d'agarose

• Préparation du gel

- ✓ Prendre 1g de poudre d'agarose et dissoudre dans un Erlen contenant 50 ml de solution tampon (TBE 1X) puis chauffer le mélange dans un four à micro-onde pendant 60 secondes ;
- ✓ Remuer le mélange et réchauffer de nouveau pendant 45 secondes ;
- ✓ Ensuite ajouter 3 µl de SYBrgreen (fluorophore permettant de visualiser le gène présent dans l'échantillon) puis verser le mélange dans le moule une fois les peignes placés (permet l'obtention de puits) ;
- ✓ Laisser reposer 1 heure dans l'obscurité (pour éviter la dénaturation du SYBr).

• Réalisation de l'électrophorèse sur gel d'agarose

- ✓ Mettre dans chaque puits 20 µl de produit de la PCR préalablement coloré avec du bleu de bromophénol, sauf le 7^{ème} puits qui lui reçoit 5µl de marqueur de poids moléculaire (100 paires de bases Ladder, miniPCR, Cambridge, MA, USA) paires de bases et le 8^{ème} puits contrôle positif et le 9^{ème} c'est le contrôle négatif ;
- ✓ Lancer l'électrophorèse sur gel d'agarose sous un voltage constant de 50 volts pendant 30 à 40 mn correspondants au temps de migration. La cellule d'électrophorèse utilisée est le BlueGELTM electrophoresis system (miniPCR, Cambridge, MA, USA).
- ✓ Une photographie du gel est réalisée. La taille des bandes observées est déterminées grace au marqueur de poids moléculaire. Il existe en effet une relation inverse entre la distance de migration et le logarithme du poids moléculaire. Pour cette PCR, on attend une bande de 584 paires de bases. Voir figure 18.

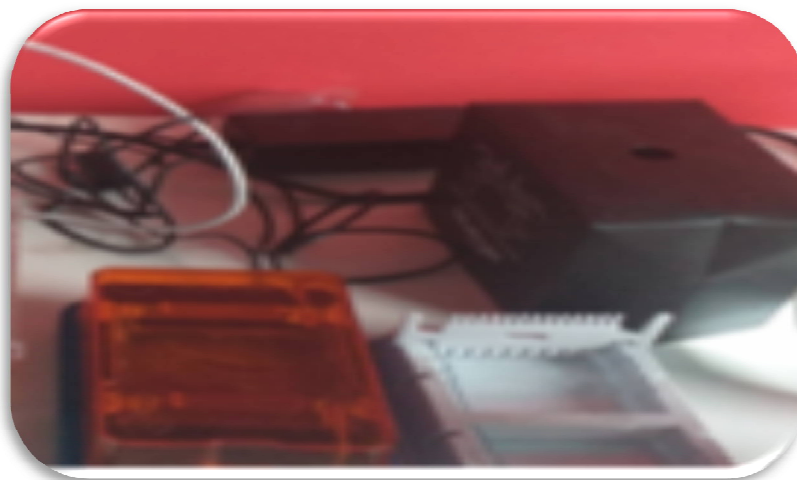


Figure 18 : l'électrophorèse sur gel d'agarose (photo personnelle).

Materiel et methodes

I.5. Analyse statistique

Afin de faire une interprétation et traitement des résultats obtenus à travers notre étude, nous avons opté pour trois logiciels : logiciel Excel (Microsoft Office 2010) pour faire les calculs nécessaires, ainsi que la présentation des données sous forme des graphes.

La comparaison des moyennes s'est faite par le test de t de Student en utilisant le logiciel Statistics to use ([Statistics to use \(csbsjuhttp://www.physics.csbsju.edu/stats/.edu\)](http://www.physics.csbsju.edu/stats/.edu)).

Les boxplots sont réalisées en utilisant le logiciel Statistics to use ([Statistics to use \(csbhttp://www.physics.csbsju.edu/stats/sju.edu\)](http://www.physics.csbsju.edu/stats/sju.edu)).

Le test d'indépendance de Chi carré a été réalisé en utilisant le logiciel BioTGV (<https://biostatgv.sentiweb.fr/>).

La comparaison des fréquences c'est faite en utilisant le logiciel MedCalc (https://www.medcalc.org/calc/comparison_of_proportions.php).

Le dendrogramme a été réalisé en utilisant le logiciel Wessa (https://wessa.net/rwasp_hierarchicalclustering.wasp). L'option choisie est le linkage comple (https://en.wikipedia.org/wiki/Complete-linkage_clustering).

Les odds ratios ont été calculés avec le logiciel MedCalc (https://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php).

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

II.1. Caractéristiques de l'échantillon

Les informations recueillies sur le terrain nous ont permis de faire la répartition des vaches examinées en fonction de leurs races, du stade de lactation et du rang de lactation.

- **La répartition selon le stade de lactation**

L'échantillon étudié est constitué de 53% vaches en début de lactation (1 à 3 mois), 47% en mi lactation (4 à 6 mois) (figure 19).

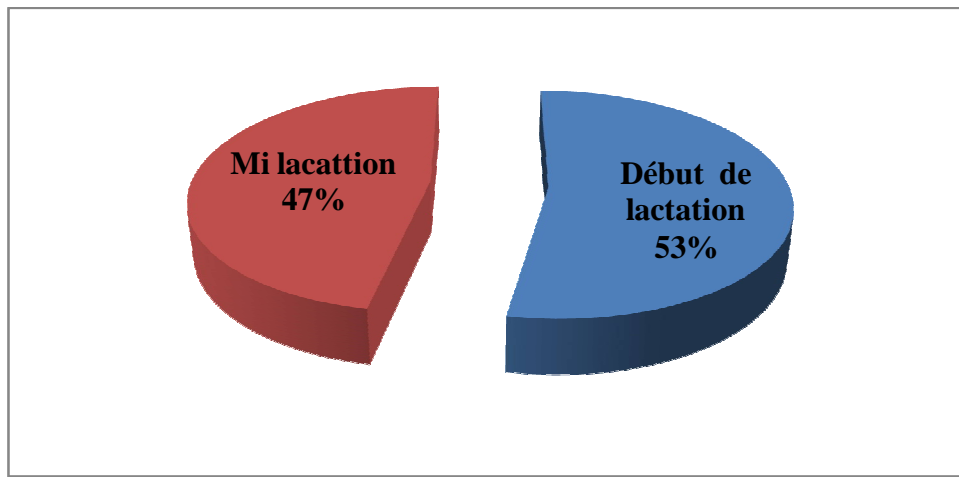


Figure 19: répartition des vaches en fonction du stade de lactation.

- **La répartition selon le rang de lactation**

La majorité des vaches examinées 65% était au 3^{ème} vêlage, 25% à leur 2^{ème} vêlage, et 10% au 1^{er} vêlage (figure 20).

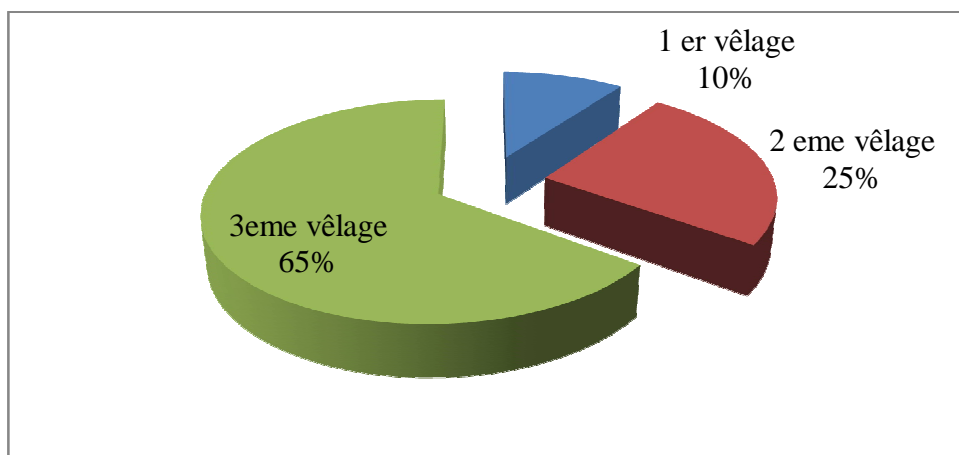


Figure 20 : répartition des vaches en fonction du rang de lactation.

Résultats et discussion

- **La répartition selon la race :**

Les races des vaches étudiées sont réparties comme suit : PN Holstein 48 (32%), Montbéliarde 47 (32 %), Fleckvieh 24 (16%), Normande 22 (15%) et Brune des Alpes 8 (5%). (Figure 21).

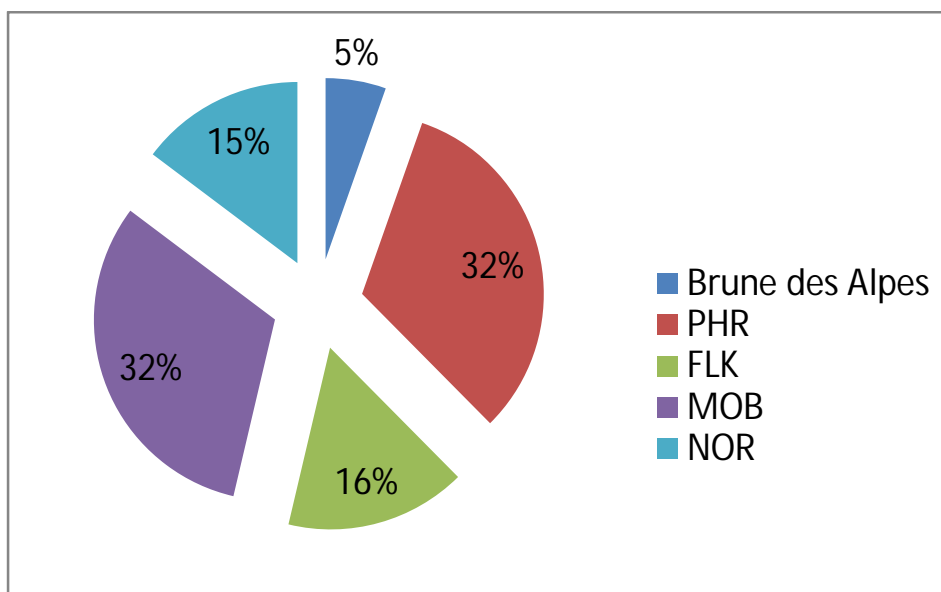


Figure 21 : répartition des vaches en fonction de leur race.

II.2. Résultat du test (CMT)

Les principaux résultats obtenus par le test CMT sur la totalité de l'effectif des vaches durant toute la période d'étude sont repartis dans les tableaux 8 et 9 et la figure 22 ci-dessous.

Tableau 8 : prévalence des mammites subclinique par CMT.

Ferme	Periode	CMT+ (Nombre)	CMT-(Nombre)	CMT+ %	CMT-%
DOUMA	fev-17	32	0	100%	0%
	mars-17	19	13	59%	41%
	avr-17	15	17	47%	53%
	mai-17	18	14	56%	44%
CNIAAG	avr-19	36	40	47%	53%
	mai-19	40	36	38%	62%
	juin-19	47	29	53%	47%
ITELV	nov-19	35	6	85%	15%
	dec-19	34	7	83%	17%
Taux global	Total des vaches 149			63%	37%

Résultats et discussion

Tableau 9 : comparaison des prévalences entre fermes.

Ferme	Nombre des vaches testées	Moyenne de CMT+	%*
Douma	32	21	65 ^{a,b}
CNIAAG	76	41	46 ^{a,c}
ITELV	41	34,5	84 ^{b,c}

* : Les lettres identiques indiquent une différence significative ($p < 0,05$) entre les proportions.

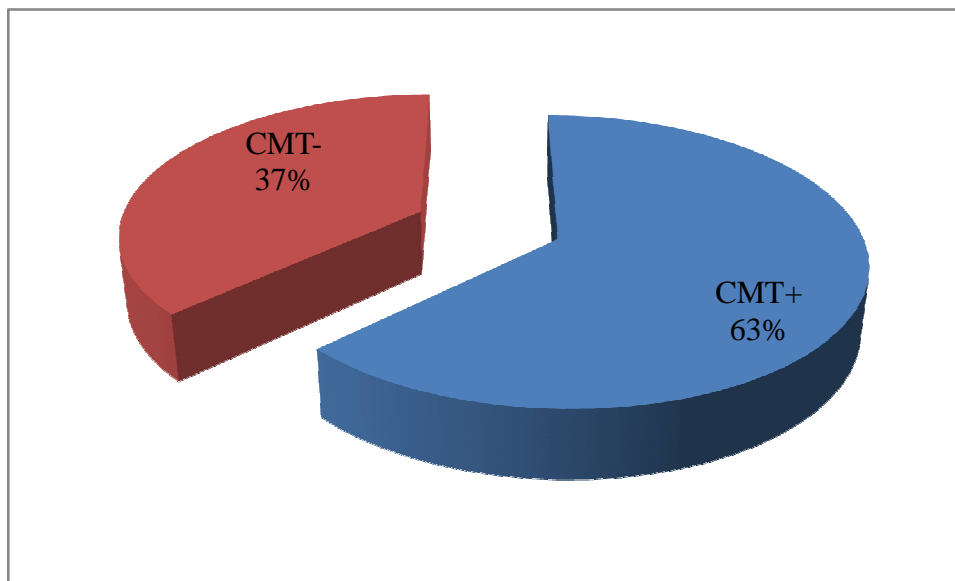


Figure 22 : résultat global du CMT par rapport aux vaches examinées.

Discussion :

Le test de mammites de Californie (CMT), décrit et utilisé pour la première fois en 1957 pour le dépistage des mammites subcliniques est à la base de leur contrôle. C'est un révélateur de mammites subcliniques lorsqu'il y a absence de mammites cliniques visibles. (Schalm et Noorlander, 1957) Dans notre étude, nous a révélé un pourcentage élevé des vaches présentant un CMT positif soit 66%.

Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus en Algérie par Boufaïda et ses collaborateurs en 2012 qui ont décelé à l'aide de CMT, une prévalence de mammites subcliniques de 79% dans le Nord-est de l'Algérie.

Dans d'autres études, la fréquence des mammites subcliniques semblait proche à notre fréquence, était de (64%) en Inde (Saxena et al., 1993) ; (62%) en Ethiopie (Dege et Tareke, 2003) ; (56%) en Jamaïque (Zingesser et al., 1991) ; (52%) en Uruguay (Giannechini et al., 2002) et (58,96%) dans la zone périurbaine de Dakar selon une étude de Kadja et al., (2010).

Résultats et discussion

Cependant elle est élevée par rapport aux résultats obtenus par (Saidi et al., 2013) en Algérie soit 28.77% ; 34% en Tunisie (M'Sadek et al.,2014) ; Fabre et al. 1991 qui est de (18%) , un taux de 13,5% trouvée par Konté (2003) dans les régions de Kaolack et de Fatick sur les races locales, 11,9% par Kalandi et al., (2017) au Sénégal.

Dans la littérature, la prévalence des vaches atteintes des mammites subcliniques varient de 17% (**Pluvinage et al.,1991**) à (78%)(**Tuteja et al.,1993**).

Les données relatives à la prévalence des mammites subcliniques varient d'une étude à une autre. Cette variation pourrait être attribuée d'une part à l'utilisation de différentes méthodes de diagnostic des mammites subcliniques (examen bactériologique, test de la concentration cellulaire somatique, CMT) et à la définition de l'infection qui est variable selon les auteurs (**Bouaziz, 2005**).

D'autre part elle peut être liée à la forte variabilité qui existe entre les régions, entre un troupeau donné à différents moments ainsi qu'au niveau de production laitière au niveau d'hygiène des bâtiments d'élevage et de la salle à traite.

Selon Hanzen (2009), le CMT a l'avantage, par rapport au comptage cellulaire individuel, d'être moins coûteux, de pouvoir être réalisé par tous les éleveurs. Il peut également être utilisé pour vérifier, voire sélectionner les animaux à traiter au moment du tarissement. Dans la pratique, le CMT constitue donc la méthode de choix pour la détection des mammites subcliniques par l'éleveur (**Gambo et al, 2001**).

II.3. Production laitière des vaches examinées

La première courbe (figure 23 (a)) représente la moyenne de production laitière sur trois prélèvements des 79 vaches en début de lactation étudiées en fonction des mois (3). Nous remarquons qu'au premier mois, les vaches produisent 14.76L, le mois suivant la production augmente pour atteindre le pic avec 17,28L ; la chute de production laitière s'installe tout de suite après avec au 3ème mois, 16,04 L.

La deuxième courbe (figure23 (b)) représente les 70 vaches en mi-lactation ; nous pouvons voir qu'au premier mois la production est de 25.92L puis diminue progressivement pour atteindre 22L le 2ème mois et enfin 14,03L le 3ème mois.

Résultats et discussion

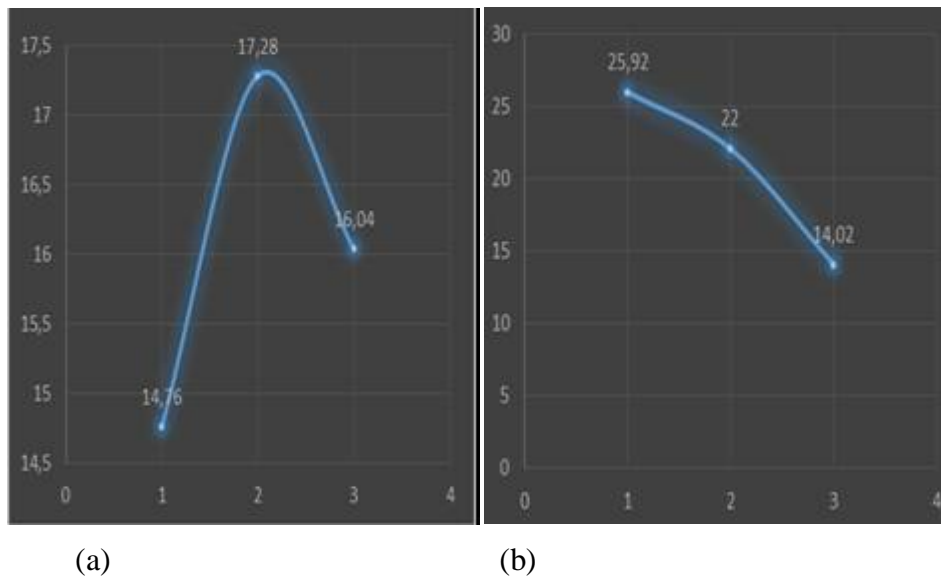


Figure 23 : les courbes de la production laitière des vaches examinées.

(a).courbe de lactation de groupe des vaches en début de lactation.

(b). courbe de lactation de groupe des vaches en mi-lactation.

Discussion :

La courbe de lactation obtenue après notre étude ne correspond pas à la courbe de lactation physiologique donc à la normale.

Groupe 1 : Pour des vaches sélectionnées génétiquement comme étant de bonnes productrices de lait, la montée de la production n'est pas spectaculaire et ne rentre pas dans les normes de production. Rajoutant à ceci le fait que cette courbe ne présente pas de plateau et la chute se fait de façon très rapide.

Groupe 2 : Cette anomalie en est de même pour les vaches en mi lactation, en effet le coefficient de persistance qui stipule que d'un mois à l'autre la production laitière doit diminuer de 10% en moyenne ; est bien dépassé dans notre étude, on note pour le 3ème prélèvement un écart qui dépasse les 40%.

La chute de production laitière pour les deux groupes de vaches s'est faite à la même période ce qui peut être expliqué par la distribution d'une même alimentation non adaptée.

Ces résultats peuvent être expliqués soit par une atteinte pathologique ou encore une mauvaise gestion sanitaire respectivement en début et mi de lactation. C'est pour cela que nous allons nous approfondir dans la recherche de l'étiologie et la relation entre les paramètres étudiés.

Résultats et discussion

II.4. Analyses physico-chimiques du lait

Tableau 10: résultat des analyses physico-chimiques des trois fermes étudiées.

Ferme	Période	Acidité	TP	TB
DOUMA	1er prélèvement	2,04	7,73	1,92
	2ème prélèvement	1,81	3,74	2,81
	3ème prélèvement	1,81	3,02	2,97
	4ème prélèvement	1,67	3,01	2,01
	Moyenne	1.83	4,38	2,43
CNIAAG	1er prélèvement	0,48	0,083	0,32
	2ème prélèvement	0,35	0,05	0,08
	3ème prélèvement	4,32	2,81	2,38
	Moyenne	1.72	0,98	0,93
ITELV	1er prélèvement	2,19	7,19	3,73
	2ème prélèvement	2,21	6,43	3,23
	Moyenne	2.2	6,81	3,48
	Moyenne globale	1.92	4.06	2.28

Acidité :

L'acidité des échantillons de lait analysés est globalement acceptable avec une moyenne de 1.92 équivalant de 19.2 °D, l'écart type 0.65 °D montre une faible variabilité des résultats, sauf pour la deuxième ferme du CNIAAG qui a enregistré des valeurs très faibles (0,48, 0,35).

Discussion :

Ces acidités titrables sont conformes à la norme **AFNOR (1985)**, de l'acidité du lait frais fixée entre 16-19°D. En effet, selon **Mathieu (1998)**, le lait de vache en début de lactation présente une acidité titrable de 19°D à 20°D.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Aggad et al., (2009)**, qui ont donné lieu à des acidités titrables des laits de mélange du même ordre de grandeur. Selon ces mêmes auteurs, ces similarités peuvent être liées au climat, au stade de lactation, à la saison et à la conduite d'élevage notamment l'alimentation et l'apport hydrique.

Cependant, les faibles taux enregistrés sont expliqués probablement à l'activité des germes pathogènes qui freinent l'activité des bactéries lactiques.

Résultats et discussion

TP :

L'un des paramètres les plus importants en ce qui concerne la qualité physico-chimique du lait est sa teneur en protéines. Le taux moyen de TP enregistré durant notre étude est de 4,06 % \pm 0,004 les fluctuations autour de la moyenne sont très faibles avec un écart type de (0,004).

Discussion :

La valeur moyenne de TP des échantillons testés est conforme aux normes, (**Luquet, 1985**), considèrent qu'un taux < 3,1 % signale un déficit énergétique (manque d'amidon), accompagné éventuellement d'un déficit protéique. Ces résultats peuvent avoir comme explication selon Wolter (1994) à la nature des sélections génétiques portant essentiellement sur l'amélioration des matières utiles (TB et TP) du lait. Cette hypothèse est confirmée par les productions laitières enregistrées qui sont modestes.

TB :

La teneur moyenne en matière grasse est de 22,8 \pm 1,78 g/l (tableau), les variations liées à ce taux sont relativement faibles. La moyenne du taux de matière grasse ne répond pas à la norme.

Discussion :

D'après (**Luquet, 1985**), un lait de très bonne qualité contient 40g/l de matière grasse, donc la teneur moyenne en matière grasse calculée présente une qualité moyenne voire faible.

Cette faible teneur en matière grasse peut être due à la race bovine exploitée, et à des conditions d'élevage telles que le stade de lactation, l'alimentation (**Luquet, 1985**).

En conclusion, il apparaît que les résultats individuels peuvent varier quels que soient le potentiel génétique et le stade de lactation des vaches. Toutefois la réponse étant dépendante de la bonne couverture des besoins nutritifs des vaches. Cette hypothèse corrobore celle émise par Wolter (1994)

II.5. Impact des mammites sub-cliniques sur la production laitière et certain paramètre physico-chimique :

Les résultats obtenus ci-dessus nous ont poussés à approfondir notre recherche en établissant la relation entre le résultat du test CMT réalisé sur le lait prélevé des vaches (un total de 360 prélèvements) avec d'autres paramètres comme la production laitière du jour, l'acidité du lait, le contenu en protéine (TP) ou en acide butyrique (TB).

Résultats et discussion

Nos résultats montrent que la teneur en TP et TB dans le lait analysé régresse significativement ($P < 0,01$) en cas de mammite, ainsi que la production laitière ($P < 0,05$).

Tableau 11 : l'association entre un test CMT positif ou négatif et certains paramètres du lait des vaches testées.

	PL (litre) moyenne±SD	Acidité moyenne±SD	TP moyenne±SD	TB moyenne±SD
CMT+ (n=219)	9,45±3,91	5,21±2,55	3,57±2,27	2,68±1,25
CMT-(n=141)	10,26±2,97	5,54±2,52	2,61±1,69	3,02±0,95
P	0.04 (S)	0.22 (NS)	<0.01 (SS)	<0.01 (SS)

Toutes les fermes (n=360)

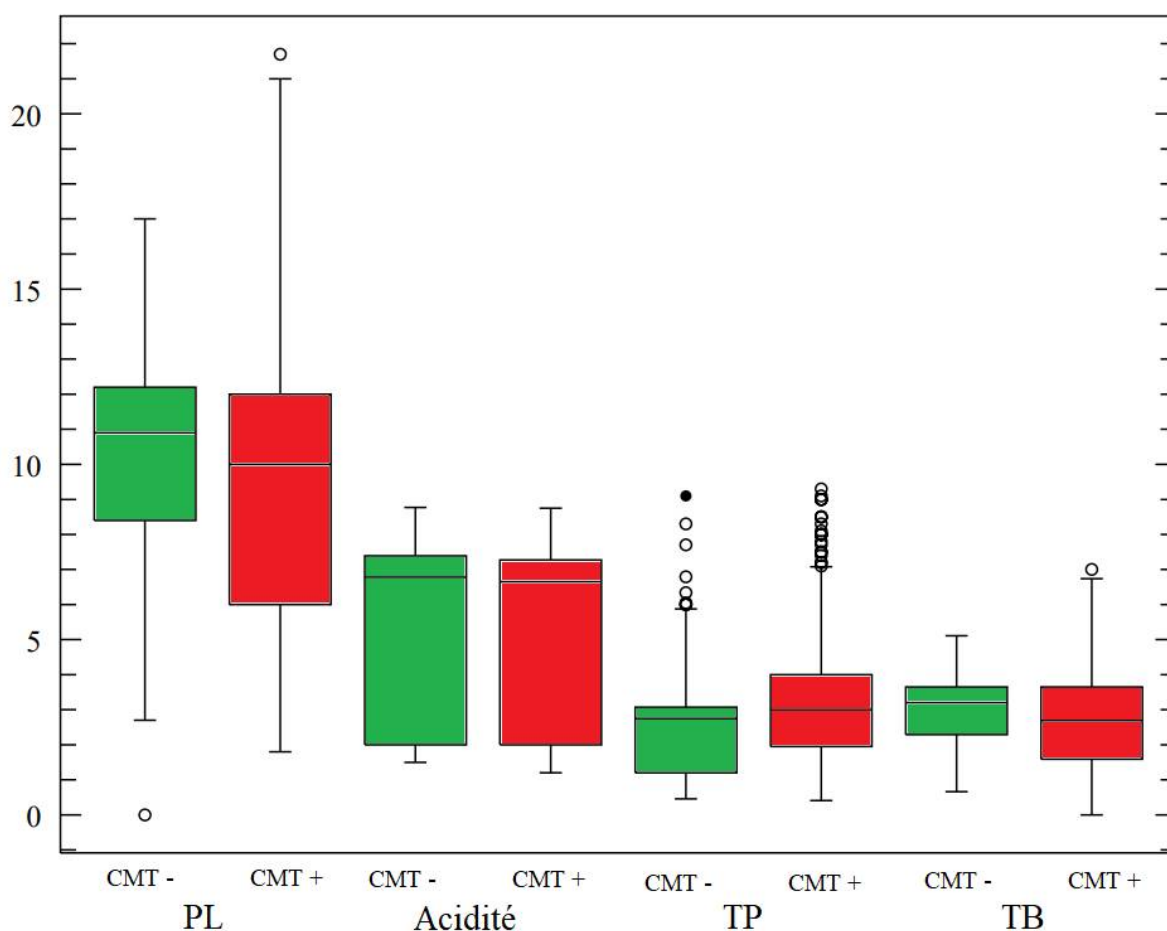


Figure 24 : relation entre résultat du test CMT avec PL, Acidité, TP et TB.

Discussion :

Diverses études ont démontré l'accroissement de l'incidence des mammites avec celui du niveau de production de lait. Les mammites viennent en tête de liste des infections dans les élevages laitiers, la production laitière du troupeau constitue l'une des mesures les plus manifestement affectées par les mammites (Roux.,1999). Selon Taylor (2006) les quantités

Résultats et discussion

de lait produites chutent de manière significative (jusqu'à 15-18%) dès que les cas de mammites augmentent.

A l'issue de nombreuses observations effectuées par Carroll et ses collaborateurs (1977) et rapportées par Sérieys et ses collaborateurs (1987) sur les laits mammitiques, une baisse de la quantité de matière grasse (de 5 à 9%) est constatée ; ils rajoutent que l'infection des mamelles entraîne une perturbation de la glande. Ils constatent aussi une diminution des éléments produits par les cellules de l'épithélium sécrétoire (matière grasse, caséine, lactose) et une augmentation des éléments provenant du flux sanguin par augmentation de la perméabilité des tissus malades (sels minéraux, solubles, protéines, cellules).

Quant aux protéines Certaines sont dites essentielles car ils doivent être apportées par l'alimentation, d'autres non-essentielles sont synthétisées par la cellule mammaire (**Hanzen, 2010**).

Cependant, Les mammites peuvent entraîner des chutes importantes de production laitière sans modification du taux protéique.

Selon la littérature, la qualité et la quantité de lait semble être dépendante du stade physiologique de l'animal en lactation et de la nature de la ration. En plus, L'apport énergétique de la ration a un effet sur le taux protéique. Selon Wolter, (1997), une bonne couverture des besoins énergétiques de la vache, surtout en début de lactation, est toujours nécessaire. Elle est encore plus bénéfique si elle comporte une part suffisante de concentrés amylacés qui stimule l'ensemble des fermentations et favorisent la production d'acide propionique au détriment de l'acide acétique (Jarrige, 1988). Cependant, les apports azotés n'ont que peu d'influence sur la composition du lait, mais leur augmentation conduit à une augmentation conjointe de la production laitière et de la matière protéique (**Miller 1983 ; Sérieys 1989 ; Agabriel et al., 1993**).

II.6. Bactériologie

Les résultats globaux de la bactériologie : l'identification le sérogroupage et l'antibiogramme des isolats sont détaillés.

II.6.1. Isolement et identification des *E. coli*

Sur les 360 prélèvements du lait, 102 isolats d'entérobactéries sont récoltés, dont 97 isolats d'*E. coli* : *Escherichia coli* type 1 représentée l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée 95 (26%), suivi d'*Escherichia coli* type 2 2 (0.9%). Les différentes espèces bactériennes isolées sont présentées dans les tableaux 12 et 13 et illustrées dans la figure 22.

Résultats et discussion

Tableau 12 : pourcentage des entérobactéries isolées lors de notre étude.

Entérobactéries isolées	Nombre (N=360)	Pourcentage (%)
<i>Escherichia coli type 1</i>	95	26%
<i>Escherichia coli type 2</i>	2	0.9%
<i>Serratia odorifera</i>	2	0.9%
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	0.9%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0.45%

Tableau 13 : répartition de la prévalence d'*E.coli* au niveau de 3 fermes.

Ferme	Nombre de prélèvement du lait	Nombre d' <i>E.coli</i> (%)
Ferme 1(DOUMA)	120	45 (37.5%)
Ferme 2 (CNIAAG)	180	30 (16.7%)
Ferme 3 (ITELV)	60	22 (36.7%)
Total	360	97 (26.9%)

E.coli est considéré comme un germe de l'environnement et il est présent en abondance sur tous les supports des étables et dans l'eau. Ce germe est considéré comme l'un des meilleurs indicateurs de la contamination fécale faisant suspecter un nettoyage avec une eau contaminée, il peut également provenir d'une mammite à *E. coli* (Beerens et Luquet, 1987).

Dans notre étude l'appellation coliforme désignant *Escherichia coli* (Pathogène majeur), est de 26.99% relativement plus élevée que celle rapportée dans la littérature. En effet, la fréquence de ce germe varie de 2% (Fabre et al., 1991) à 7% (Longo et al., 1994). L'importance de cette espèce est confirmée par les autres études d'Anderson (1990), les coliformes sont retrouvés dans 20 à 80% des mammites subcliniques aux Etats Unis.

Dans une autre étude, Bradley et Green (2000), rapportent que les coliformes sont responsables de 50% des mammites.

La prévalence obtenue dans notre étude est supérieure à celle enregistrée par divers auteurs dans le monde à savoir (21.6%) Bouaziz et al.,(2005), Nam et al., (2009) en Corée ,(16%), Botrel et al., (2009) en France, Gebrewahid et al.,(2012) en Ethiopie (17%), Saini et al.,(2013) au Canada 17.7%,Verbeke et al.,(2014) en Belgique (15.5%),Olivares-Perez et al.,(2015)(10%), Ameen et al.,(2019) en Egypte (17%) et Yu et al.,(2020) en Chine (11.1%).

Résultats et discussion

Cependant, nos résultats semblent proches de ceux obtenus par Harini H. et Sumathi.,(2011) en Inde, Haftu et collaborateurs (2012), Saidani et al.,(2018) en Tunisie, Nuesch-Inderbinen et al.,(2019)et Sedrati et al.,(2020) dans l'est de l'Algérie qui ont enregistré des fréquences de 23.5, 27.3,31.7, 24.5 et 26 % respectivement.

Cette fréquence 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. Le mauvais entretien de la litière, la mauvaise hygiène de la stabulation et des animaux en général pourrait expliquer la fréquence élevée d'*E. coli* isolé dans cette étude. Bradley et Green (2000), rapportent que les coliformes sont responsables de 50% des mammites durant les 100 premiers jours de la lactation. En France *E. coli* occupe aussi une place importante dans les infections intra mammaires avec une fréquence de 14,5 % dans une étude de 1991 (**Fabre, 1991**). Une étude effectuée à Madagascar rapporte qu'*E.coli* est isolé dans 20% des laits de mammites (**Rakotozandrindrainy, 2007**). Mocquot et Guittonneau (1939), ont démontré que les coliformes du genre *Escherichia* sont les plus fréquents dans les excréments des vaches laitières. Ils contaminent le lait directement (par contact direct avec le pis), ou se multiplient lors d'un mauvais nettoyage dans les rinçures des ustensiles laitiers.

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.

Les bouses de vaches sont fortement contaminées par les coliformes. Quelques milligrammes suffisent à contaminer le lait à la récolte. Mais aussi l'eau peut être une source de coliformes avec une possibilité de multiplication si sa charge en matière organique est importante. La contamination du lait en coliformes est spécifiquement liée à l'hygiène de la traite (lavage des mains et des mamelles, filtration du lait) et aussi un très bon indicateur dans la procédure de nettoyage des installations de traite (**Beerens et Luquet, 1987**).

Les mammites colibacillaires, à *E. coli* correspond au prototype de la mammite d'environnement. Elle très souvent incriminée lors de mammites cliniques aiguës leur incidence est en émergence depuis plusieurs années (**Rainard. et al., 2018**).

II.6.2. La corrélation entre la présence d'*E.coli* et le résultat du CMT

Nous avons voulu savoir s'il existait une association entre le fait d'avoir un test CMT positif et le fait d'avoir isoler *E. coli* du lait de ces vaches. Pour ce faire, nous avons réalisé un calcul d'odds ratio (OR).

Tableau 14: association entre la présence d'*E.coli* et le résultat du test CMT.

Résultats et discussion

	<i>E. coli</i> +	<i>E. coli</i> -
Statut (CMT +)	74	147
Statut (CMT-)	23	116
(%)	76.3	55.9
Odds	3.2	1.3
Odds ratio (CI 95%)	2.5 (1.5-4.3°)	
P	<0.05	

Comme l'OR est significativement plus grand que 1, on conclut qu'il y a une association positive entre le fait d'avoir un test CMT positif qui reflète la présence d'une mammites, et le fait d'isoler *E. coli* du lait.

Discussion :

Les bactéries à Gram négatif et plus particulièrement les coliformes sont une cause majeure de mammites en élevage bovin laitier (**Morin, 2009**). *E.coli* est une bactérie fréquemment isolée des mammites. En effet, les mammites à *E. coli* sont la cause la plus fréquente de mammites en début de lactation (**Bradley et Green, 2001**). Bien que l'incidence de ces mammites varie d'un pays à l'autre, elle se situe généralement autour de 20% (**Poutrel, 2008**). Par contre, une incidence plus élevée, atteignant 50% a été rapportée dans certains pays (**Fairbrother et Nadeau, 2010**). Les mammites à coliformes sont une cause majeure (30 à 50 %) de maladie au niveau des élevages performants de vaches laitières (**Morin, 2009**).

II.6.3. Association entre *E. coli* et les paramètres du lait

Les résultats concernent 149 vaches laitières, soit un total de 360 échantillons du lait analysés dont 78 prélèvements ratés. Toutes les fermes prises ensemble.

Le tableau 15 et la figure 25 indiquent l'association statistique entre la présence d'*E.coli* et certains paramètres du lait examiné. Il ressort que la présence d'*E.coli* n'a pas un effet significatif sur la production laitière des vaches examinées ($p > 0.05$).

En revanche, il existe une différence significative ($p < 0.05$) entre les valeurs obtenues de l'acidité, TP et TB chez les vaches dont nous avons isolé *E.coli* du lait par rapport aux vaches dont le lait n'a pas permis d'isoler *E.coli*.

Résultats et discussion

Tableau 15 : association entre la présence d'*E. coli* et les paramètres du lait.

	PL	Acidité	TP	TB
EC-	9,63±3,66	5,517±2,50	2,93±1,89	2,95±1,09
EC+	10,2±3,35	4,79±2,59	4,01±2,53	2,39±1,24
P	0,21 (NS)	0,02 (S)	<0,01(SS)	<0,01 (SS)

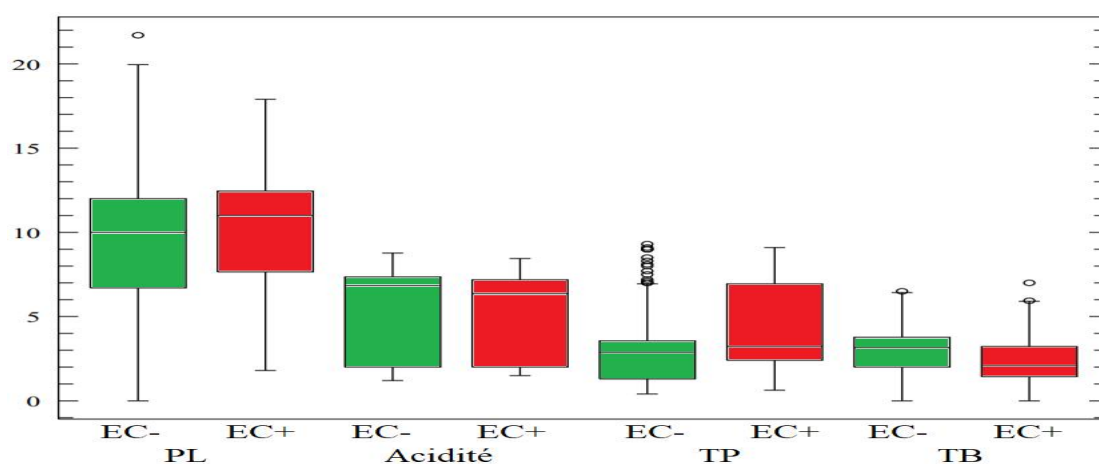


Figure 25 : association entre la présence d'*E. coli* et les paramètres du lait.

Discussion :

Les mammites bovines constituent un domaine pathologique dans les élevages laitiers où elles occasionnent des pertes économiques considérables. Ces pertes sont liées aux réductions de production laitière, quant à la mammitte à *E. coli*, la plupart des cas elle est transitoire et se termine par la mort de l'agent pathogène ou de l'hôte (Yu et al., 2018). Cependant, ces pertes peuvent être graves au début de la lactation, vu la capacité de croissance d'*E. coli* exponentielle en conditions de quasi anaréobiose (Remy, 2010).

L'acidification est la transformation physico-chimique du lactose en acide lactique par les bactéries lactiques présentes dans le lait (vignola, 2002).

Ainsi, Kiswa et Rotkierwicz ont pu démontrer que l'activité des bactéries lactiques était nettement plus faible dans le lait de mammites subcliniques en raison de l'activité des germes pathogènes qui freinent l'activité des bactéries lactiques.

Résultats et discussion

En revanche, les teneurs en matière grasse et en protéines évoluent de façon inverse avec la quantité de lait produite (Rémond, 1987 ; Agabriel et al., 1990 ; Schultz et al., 1990).

II.7. Le sérogroupage des souches *E.coli*

Les résultats de la sérotypie réalisée sur les 97 des isolats d' *E.coli* obtenus durant notre étude (figure 26), ont permis d'identifier 89 isolats d'*Escherichia coli* soit une prévalence de 92% qui sont confirmées comme étant des souches de sérotypes connus pour contenir des souches pathogènes.

Nos souches possèdent l'un de ces antigènes homologues (0111 + 055 + 026 + 086 + 0119 + 0127 + 0125 + 0126 + 0128).

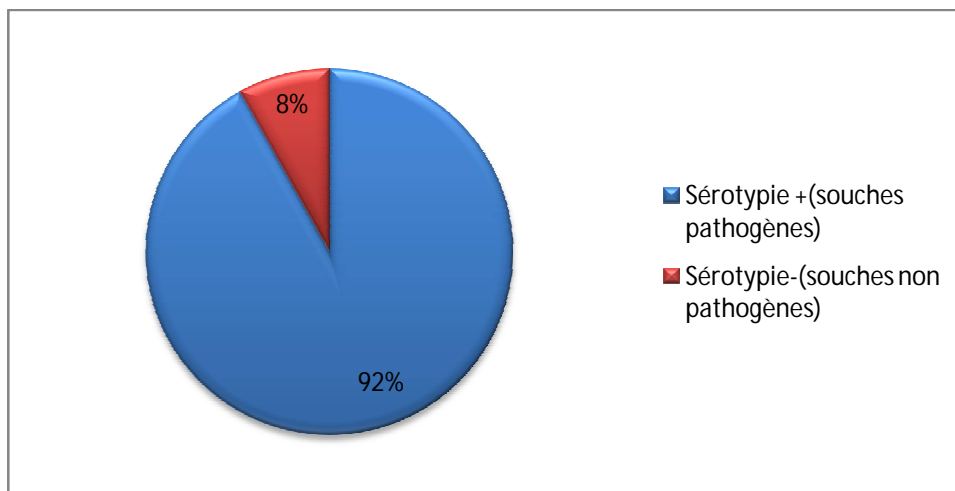


Figure 26 : le sérogroupage des souches *E.coli*.

II.8. L'antibiogramme

II.8.1. Etude de sensibilité et de résistance d'*E.coli* isolés

La figure 27 montre les deux boîtes de l'antibiogramme d'une souche *E.coli* après incubation 18 heures à 37 C°.

Résultats et discussion



Figure 27 : Antibiogramme d'une souche *E.coli* après incubation 18 h à 37 C° (Photo personnelle).

Le profil de sensibilité et de résistance d'*E.coli* isolés vis à vis 12 antibiotiques testés est présenté dans le tableau 16.

Tableau 16: profil de sensibilité d'*E.coli* vis à vis de 12 antibiotiques

Famille	Antibiotique	Abréviation	charge des disques	R%	I%	S%
B-lactamine	Amoxicilline	AMX	25µg	77,3	5,2	17,5
	Amoxicilline-Ac	AMC	20/10µg	23,7	26,8	49,5
	Ampicilline	AMP	10µg	58,8	6,1	35,1
Cephalosporine	Cefotaxime	CTX	30µg	51,5	11,3	37,1
Aminosides	Gentamicine	GEN	10µg	12,4	1	86,6
	Kanamycine	K	10µg	33	4,1	62,9
Phénicolés	Chloramphénicole	CHL	30µg	6,2	9,3	84,5
Polypeptides	Colistine	CST	25µg	13,4	3,1	83,5
Quinolones	Acide Nalidixique	AN	30µg	76,3	5,2	18,5
Fluoroquinolones	Enrofloxacin	ENR	5µg	40,2	29,9	29,9
Cyclines	Tétracycline	TET	30µg	53,6	14,4	32
Sulfaméthoxazole+Triméthoprime		SXT	1,25/23,75µg	3	25,8	71,2

Résultats et discussion

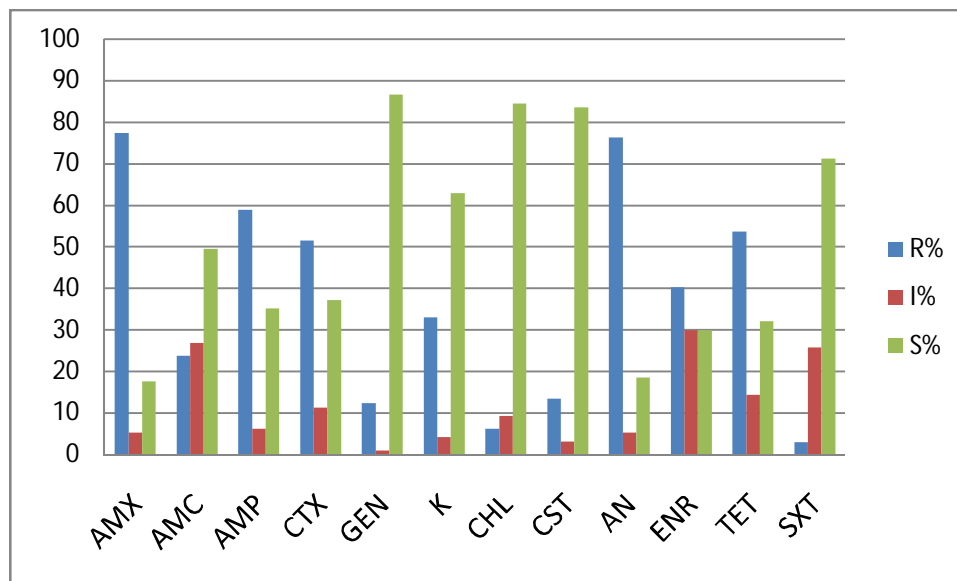


Figure 28 : profil de résistance d'*E.coli* vis à vis de 12 antibiotiques.

La généralisation de l'antibiothérapie a produit des résultats spectaculaires sur le traitement des mammites. Mais elle a un corollaire fâcheux, l'antibiorésistance des germes. Le but de cette étude est de déterminer la sensibilité aux antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des mammites de la vache de souches *E.coli* isolées de laits de mammites, afin de disposer de données sur l'efficacité potentielle des antibiotiques disponibles sur le marché.

Notre étude a révélé une grande variation de la résistance aux antibiotiques testés. Plusieurs auteurs s'accordent sur le fait que l'utilisation des antibiotiques chez l'animal comme agents thérapeutiques, prophylactiques ou comme facteur de croissance peut entraîner une réduction de l'efficacité de ces produits en médecine vétérinaire comme en médecine humaine, suite au développement des souches résistantes.

En outre, des études antérieures ont montré que les pressions de sélection persistant pendant un nombre important d'années aurait pu présélectionner une population de souches résistantes aux médicaments avant l'utilisation d'antibiotiques à chaque ferme (**Avrain et al., 2003 ; Boonyasiri et al., 2014**).

Une autre hypothèse posée par différents auteurs suggérant une relation entre la résistance aux antibiotiques et l'utilisation des désinfectants, qui reposerait soit sur des mécanismes de résistance communs entre les molécules, soit sur la co-sélection de gènes de résistance aux antibiotiques lors de la pression de sélection exercée par les désinfectants (**Sidhu et al., 2002**). Cette hypothèse a été renforcée par un avis de l'EFSA (2010) qui conclue que l'utilisation de biocides (y compris les désinfectants, les antiseptiques et les agents conservateurs) peut également jouer un rôle dans ce phénomène de résistance aux antimicrobiens. Cependant, des études réalisées aux États-Unis indiquent qu'il n'y a pas de

Résultats et discussion

corrélation entre une résistance accrue des antimicrobiens couramment utilisés chez les bovins laitiers pour le traitement de la mammite (**Erskine et al.2001, Makovec et Ruegg., 2003**).

Les animaux producteurs d'aliments, abritent des bactéries dans leur le tractus intestinal, qui peut être pathogène pour l'homme. Ces bactéries pourraient servir de réservoirs de déterminants de la résistance qui pourraient se propager tout au long de la chaîne alimentaire, ce qui réduit l'efficacité des antimicrobiens utilisés en médecine humaine et vétérinaire (**Osterberg J et al., 2016 ; Gouvêa R et al., 2015**).

Naturellement *E. coli* est sensible aux antibiotiques, *il* a acquis des résistances à de nombreuses molécules, les résultats obtenus montrent une forte résistance contre plusieurs antibiotiques, en particulier : amoxicilline, tétracycline, ampicilline, acide nalidixique et cefotaxime, avec des taux de 77.3%, 53.6%, 58.8%, 76.3%, et 51.5% respectivement.

D'autres résistances ont été enregistrées dans notre étude qui représente des niveaux moyens de résistance (20 à 40%), sont vis-à-vis enrofloxacin, la kanamycine et l'association amoxicilline-acide clavulanique avec des taux de 40.2%, 33 et 23.7% respectivement.

Cependant, les souches d'*Escherichia coli* testées présentent une bonne sensibilité pour la gentamicine 86.6%, chloramphénicol 84.5% et la colistine sulfate 83.5%.Triméthoprime sulfaméthoxazole 71.2%.

Dans cette étude, il ressort clairement que les molécules les plus efficaces contre les colibacilles sont la gentamycine suivi par la colistine, avec des taux de sensibilité significativement plus élevés par rapport aux autres antibiotiques de différentes familles.

II.8.2. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques

➤ Les β -lactamines

Les résultats mettent en évidence une forte résistance des *E. coli* à cette famille d'antibiotiques, avec des taux de 23.7% pour l'amoxicilline/Acclavulanic avec 26.8% d'intermédiaire et de 58.8% pour l'ampicilline, 51.5% pour cefotaxime et 77.3% pour Amoxicilline. Ces taux élevés de résistance sont probablement liés à l'utilisation excessive et anarchique des β -lactamines. Il existe une diversité de mécanismes de résistances du germe vis-à-vis de cette famille, soit par imperméabilisation, soit par altération des PBP, soit par production de β -lactamases comme rapporté par Quintiliani et Courvalin (1995). Les taux très élevés de résistance montés dans notre étude peuvent être expliqués probablement, d'une part, par l'utilisation abusive et anarchique de ces molécules par les vétérinaires, qui ne peut

Résultats et discussion

avoir que des répercussions néfastes sur la santé publique. et d'autre part par leur grande disponibilité sur le marché Algérien.

Pour l'amoxicilline/Ac clavulanic, notre taux de résistance obtenu est supérieur par rapport aux résultats d'Hendriksen et collaborateurs (2008) en Espagne et en suède, Lira et collaborateurs (2004), Rangel et Marin (2009) au Brésil, Bortel et collaborateurs (2009) en France, Saini et collaborateurs (2013) au Canada, Hinthong et collaborateurs (2017) en Thaïlande, Saidani et collaborateurs (2018) en Tunisie, Poutrel et collaborateurs (2018) en France, Locatelli et al.(2019) en Italie et Nuesch-Inderbinet et collaborateurs (2019) en Suisse, qui ont rapporté des taux de 4,0, 14.3, 0.8, 9.2, 0, 18.6, 2.5, 15.2 et 2.4 % respectivement.

Cependant, Fazel et collaborateurs (2019) en Iran, et Bendella et collaborateurs (2020) en Algérie qui ont noté des résistances proche à celle enregistrée dans notre étude 22.5 et 22.6 % respectivement.

En revanche, Sedrati et ses collaborateurs (2020) dans l'est de l'Algérie, Nobili et collaborateurs (2016) et Barbour et collaborateurs (2015) en Liban, Cheng et collaborateurs (2018) en Chine, Ameen et collaborateurs (2019) en Egypte ont rapporté des pourcentages plus élevés 59,6, 100,100, 81 et 80 % respectivement.

L'ampicilline, antibiotique considéré comme à large spectre, montre cependant un taux de résistance de 58.8 % des souches d'*Escherichia coli*. Cette proportion est à replacer dans la fourchette très large des résistances observées dans différentes études qui varie de 13 à 95%. En effet le taux obtenu dans cette étude est proches à ceux qui ont été signalées dans différents pays par, Fazel et al., (2019) en Iran (66,19%),Rangel P. et Marin J.M. (2009) en Brésil (58.3%) Hendriksen et al., (2004) en Espagne 51% et Locatelli et al.,(2019) en Italie 66.6% .

Plus de 96 % des souches étaient résistantes à l'ampicilline ont été obtenu par Tomazi et al. (2018), également pour Srinivasan et al.,(2007) aux Etats Unis 98.4 %.

Cependant, elle reste nettement supérieure aux fréquences de 29, 31.5, 18.9,2.5,11.3, 22, 33.3, 30 et 30.1% rapportées par Hendriksen et al.,(2008) au suède, Saini et al., (2013) au Canada,Ombarak et al.,(2018) en Egypte, 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 Siddikiet al. (2019) en Bangladesh et Yu et al.,(2020) en Chine, respectivement.

Résultats et discussion

Pour l'Amoxicilline le taux enregistré dans notre étude (77.5%), est similaire à ceux obtenu par Boireau et al.,(2017) en France (75.7%), Faruk siddiki et al.,(2019) en Bangladesh (70%),Sedrati et al, (2020) en Algérie (86,5%).

Nos conclusions ont notamment montré une augmentation de la résistance aux céphalosporines de la troisième génération chez les bovins laitiers atteints des mammites une résistance plus élevée au Cefotaxime soit 51.5% qui est semblable à ce qui a été noté par Saini et al.(2013) au Canada avec un taux de (50%).

Cependant, ce taux est vraiment supérieur à ce qui a été publié par Lira et al.(2004) au Brésil,Omarak et al.(2018) en Egypte et Yu et al.(2020) en chine, où ils ont obtenu les taux de 0, 0.05 et 18.1 % respectivement.

Par ailleurs, Barbour et al. (2015) au Liban a enregistré un taux plus élevé en qu'au notre soit 97%.

Cette hausse est particulièrement inquiétante car les 3GC ont été classés comme des antibiotiques d'importance critique (**Collignon et al. 2009**).

Selon les registres de vente d'antibiotiques, les pénicillines, céphalosporines (première et deuxième et troisième générations), et les tétracyclines sont les classes d'antibiotiques les plus fréquemment utilisées pour l'administration intra mammaire en Algérie.

Nous avons pu enquêter sur les perfusions intra mammaires disponibles en Algérie ces dernières années, parmi une vingtaine, 8 contenaient de la pénicilline (3 pénicilline G, 2 cloxaciline, 2 ampicilline et 1 l'AMC), 7 contenaient oxytétracycline, 5 contenaient des céphalosporines dont 2 de la première génération, 1 de la deuxième génération et 2 contenaient des céphalosporines de dernière génération (avec la céfquinome).

➤ Les tétracyclines

Pour cette famille d'antibiotiques, un taux de résistance de 53.6% est obtenu vis-à-vis de la tétracycline, installant cette molécule à la première place dans le premier groupe renfermant les taux de résistance les plus élevés.

Les tétracyclines représentent les plus anciennes molécules utilisées, autant en thérapie que préventivement, engendrant des résistances très élevées. En effet, en 1948, toutes les souches sont sensibles aux cyclines, mais, en moins de 10 ans (1956-1957), 9% des souches sont devenues résistantes aux tétracyclines, pour atteindre 29% en 1959-1960 et cette tendance n'a cessé de croître depuis.

Nos résultats rejoignent ceux Sedrati et al.(2020) à l'est de l'Algérie (75%) et Boireau et al.,(2017) en France (73.2%).

Résultats et discussion

Cependant, nos résultats sont largement supérieurs par rapport à ceux obtenus par Langoni et al., (2000) au Brésil, Srinivasan et al., (2007) aux Etats Unis, Bortel et al., (2009) en France, Supré et al., (2014) en Belgique, Cheng et al., (2018) en Chine, Nuesch-Inderbinnen et al., (2019) en Suisse, Chehabi et al., (2019) au Danemark, Fazel et al., (2019) en Iran, où les taux de résistance sont 13, 24.8, 10.4, 14.7, 10, 14.6, 11.3 et 49.2% respectivement.

Néanmoins, nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus au Brésil avec un taux de 92.2% (Rangel et Marin, 2009) et en Chine avec 91% (Yuet al., 2020) de résistance contre la tétracycline.

D'après ces résultats, l'on ne constate que la résistance d'*E. Coli* à la tétracycline a été retrouvée par la plupart des études, de même que par la nôtre.

Les tétracyclines ont été utilisées de façon inappropriée dans les aliments du bétail dans de nombreux pays, ce qui a entraîné l'apparition de résistances. Cela a poussé certains pays comme le Royaume Uni, à interdire l'utilisation de cet antibiotique dans l'alimentation de bétail (**Helali, 2002**).

Les tétracyclines ne font pas exception à l'apparition d'antibiorésistances. Leur utilisation très large en médecine vétérinaire explique que ces résistances soient actuellement importantes, pouvant atteindre en production animale plus de 90 % des souches bactériennes de *Salmonella enterica* et d'*Escherichia coli*. Ces résistances sont croisées entre les différents représentants du groupe pour les molécules d'intérêt vétérinaire. Cela est peut être due à la localisation du gène tet sur les plasmides, qui entraînent soit une protection du site de fixation ribosomal par une protéine néosynthétisée, soit un efflux actif faisant intervenir des pompes d'efflux qui renvoient immédiatement à l'extérieur de la bactérie les tétracyclines (**Bryan et al., 2004**), (**Ibekwe et al., 2011**).

➤ Les quinolones

Dans cette étude, la sensibilité des souches isolées est testée vis-à-vis de l'acide nalidixique, quinolone de première génération, et l'enrofloxacin, quinolone de troisième génération. Les taux de résistance sont de 76.3% pour l'acide nalidixique et de 40.2% vis-à-vis de l'enrofloxacin.

Nos souches présentent une forte résistance, pour les deux molécules de cette famille. Ces taux élevés de résistance à cette famille d'antibiotiques peuvent être expliqués, d'une part, par la forte utilisation de ces molécules il y'a plusieurs raisons à

Résultats et discussion

cela : l'administration systématique de ces molécules et surtout l'enrofloxacin, une autre raison c'est leur grande disponibilité sur le marché algérien, et surtout par la présence de génériques à prix très abordables, alors qu'il y a quelques années, il n'existait que la molécule mère, très onéreuse; d'autre part au fait que les quinolones partagent un seul et même mécanisme d'action. Par conséquent, la résistance acquise vis-à-vis de l'une confère automatiquement la résistance aux autres membres de cette famille d'antibiotiques (résistance croisée).

Pour l'acide nalidixique, nos résultats sont plus élevés que ceux enregistrés par Hendriksen et al. (2008) en Espagne et en suède, en USA par Srinivasan et al. (2007), Botrel et al. (2009) en France, 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 rapporté des taux de 31, 14, 2.3, 0, 13.6, 2.5, 1.6 et 27.2 % respectivement.

Cependant, on obtient un taux semblable à ceux enregistrés au Brésil par Rangel et Marin. (2009) et Sedrati et al. (2020), où ils enregistrent un taux de 88.3 et 75 % respectivement.

En ce qui concerne l'enrofloxacin, nos résultats sont largement supérieurs par rapport à ceux publiés par, Bortel et al. (2009), Boireau et al. (2017) et Poutrel et al. (2018) en France, Cheng et al. (2018) et Yu et al. (2020) en Chine, Locatelli et al. (2019) en Italie, Fazel et al. (2019) en Iran, et Bendella et al. (2020) en Algérie. Qui marquent des taux de 0, 25, 0, 2.5, 13.3, 22.5, 31.2 et 4.8 % respectivement.

Selon Boucheron *et al.* (2003), deux mutations dans le gène *gyrA* et une ou deux mutations dans le gène *parC* au niveau de la région QRDR (Quinolone Resistance Determining Region) chez les souches *E. coli* d'origine aviaire, confèrent un haut niveau de résistance vis-à-vis de l'acide nalidixique et de l'enrofloxacin.

➤ Les sulfamides

Pour cette famille d'anti-infectieux, la sensibilité des souches est testée vis-à-vis de l'association triméthoprime/sulfaméthoxazole,

Les taux moyennement importants enregistrés, autant dans notre étude que par d'autres auteurs, est probablement la conséquence de la rareté de prescription de cet anti-infectieux ou par rapport à sa disponibilité en association avec d'autres molécules.

Nos résultats indiquent un taux de résistance vis-à-vis de cette association de 3% mais un taux intermédiaire de 25.8% semble inquiétant.

Les taux de résistance rapportés dans le monde par divers auteurs sont de 18.4, 11.3, 23, 17.8, 18.3 et 10% par Saini et al. (2013) au Canada, Ombarek et al. (2018) et par

Résultats et discussion

Ameen et al. 2019 en Egypte, Saidani et al. (2018) en Tunisie, Fazel et al. (2019), Nuesch-Inderbinen et al. (2019) en Suisse, respectivement.

Le taux de 3% de notre étude est proche de celui obtenu par Hinthong et al. (2017) en Thaïlande où il a enregistré (3.8%) comme résistance contre cet antibiotique.

Cependant, d'autres auteurs ont obtenu des taux nettement supérieurs comme ceux notés par Boireau et al. (2017) en France, Chinwe Juliana Iwu et al. (2017), Locatelli et al. (2019) en Italie, Yu et al. (2020) en Chine, Sedrati et al. (2020) dans l'est de l'Algérie soit des taux de 35.1, 63, 40 et 36,5% respectivement.

➤ Les aminosides

La sensibilité des souches isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de deux molécules de cette famille d'antibiotiques, que sont la kanamycine et la gentamicine.

Le taux de 33% vis-à-vis de la kanamycine est dû à l'utilisation réfléchie de cet antibiotique dans les thérapies. La forte sensibilité des souches *E. coli* vis-à-vis de la gentamicine est due à la non utilisation de cet antibiotique dans les traitements vétérinaires et donc pas de sélection de souches résistantes.

Pour la kanamycine, nos résultats sont plus élevés que ceux obtenus en Indonésie par Oktivia Chandra Mustika et al. (2015), au Danemark par Chehabi et al. (2019), en Chine par Cheng et al. (2018) et par Yu et al. (2020), en Egypte par Ombarek et al. (2018), Saini et al. (2013) au Canada, en France par Bortel et al. (2009), Srinivasan et al. (2007) en USA et par Hendriksen et al. (2008) en Suède et en Espagne, où ils enregistrent les taux de 7, 0, 6, 4.8, 18.5, 17.1, 6, 3.9, 5 et 26 % respectivement.

Nos résultats sont plus bas à ceux rapportés en Iran par Fazel et al. (2019), en Algérie par Messaï *et al.* (2013) et Rahimi (2013) où ils enregistrent des taux de 67.6, 75 et 100% respectivement.

Pour la gentamicine nous avons enregistré un taux de 12.4%. Ceci est proche de ce qui a été enregistré par Saidani et al. (2018) en Tunisie, Ameen et al. (2019) en Egypte, et Yu et al. (2020) en Chine 19.5, 13.3 et 12% respectivement.

Les résultats rapportés par Tadesse et al. (2018) étaient relativement similaires à notre étude où la croissance in vitro d'*E. Coli* était limitée par la gentamicine, Cependant ce taux est élevé par rapport à ceux enregistrés par Lira et al. Au Brésil, Saini et al. (2013) au Canada, Poutrel et al. (2018) en France, Zhang et al. (2018), au Danemark par Chehabi et al. (2019), Locatelli et al. (2019) en Italie, et Faruk Siddiki et al. (2019) en Bangladesh, où ils sont de 0,2.5, 1.25, 0, 6.7, 0.7 % respectivement.

Résultats et discussion

Par ailleurs, nos résultats sont bas par rapport à ceux rapportés par, Hendriksen et al., (2008) en Espagne, Rangel et Marin., (2009) au Brésil, Barbour et al., (2015) au Liban, Ranjbar et al. (2018), Fazel et al., (2019) en Iran, Bendella et al., (2020) en Algérie ou les taux rapportés sont de 25, 67.9 , 77 , 100 , 49.2 , 23 % respectivement vis-à-vis de cet antibiotique.

➤ Les polypeptides

La sensibilité des souches est testée vis-à-vis de la molécule type de cette famille d'antibiotiques qui est la colistine ou polymyxine E. Les résultats indiquent une faible résistance vis-à-vis de cette molécule, avec un taux de 13.4%.

La colistine est connue pour être efficace sur *Escherichia coli*. Ce faible taux de résistance peut être expliqué par l'utilisation modérée et réfléchie de cette molécule comme traitement et généralement en association avec d'autre molécule comme ampicilline, Quinocilin* ou Ampidexalone*.

D'autre part, les résistances des bactéries Gram négatif sont rares vis-à-vis de la colistine, voire exceptionnelles, et sont de type chromosomique (la mutation chromosomique est un phénomène rare donc peu de résistance) comme rapporté par Garnacho-Montero *et al.* (2003). Le taux enregistré dans cette étude est plus élevé par rapport ce qui a été publié par Ohnishi et al., (2011) et Bortel et al. (2009), Sedrati et al. (2015) et Chehabi et al., (2019) au Danemark où ils ont enregistré des taux de de résistance de l'ordre de 0, 0.8, 0 et 0% respectivement.

Cependant, des taux similaires aux nôtres sont rapportés dans les études d'Aggad et al. (2010) et Bendella et al. 2020 avec des taux de 16 et 16.4% respectivement.

➤ Les phénicolés

La sensibilité des souches *E. coli* isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de la molécule la plus ancienne de cette famille, le chloramphénicol. Nous enregistrons un taux de résistance de 6.2%.

Ce médicament n'est plus sur le marché officiel. Il a été retiré de nomenclature vétérinaire à cause de l'aplasie médullaire qu'il est susceptible d'engendrer. Ce taux de résistance noté, serait donc le fait de la persistance d'une résistance acquise antérieurement, d'une résistance "croisée" ou plus vraisemblablement à une utilisation illégale de cet antibiotique.

Résultats et discussion

Le taux obtenu dans cette étude est plus élevé que ceux enregistrés par Ombarak et al., (2018) en Egypte et Chehabi et al.,(2019) au Danemark, où ils obtiennent les taux de 0,02 % respectivement.

Des taux semblables au notre ont été enregistrés par Oktivia Chandra Mustika et al.,(2015) en Indonésie, Zhang et al., (2018) où ils obtiennent les taux de 5 et 7 % respectivement.

Cependant nos résultats sont inférieurs à ceux enregistrés par par Hendriksen et al., (2008) en Espagne, Saini et al. (2013) , Locatelli et al.,(2019) en Italie, Bendella et al.,(2020) en Algérie Chinwe Juliana Iwu et al.(2017),Tadesse et al (2018) et Yu et al., (2020) en Chine ,où ils obtiennent respectivement des taux de 31, 13.1, 21.9, 31.4, 26 , 65.7 et 10.8 % respectivement.

II.8.3. La multirésistance

Sur les 97 souches d'*E.coli* analysées, on constate que de nombreuses souches sont résistantes à plus d'un antibiotique. 91 (93,8%) souches résistent au moins à un antibiotique. La figure 28 montre les fréquences de multirésistance enregistrées pour chaque nombre d'antibiotique :

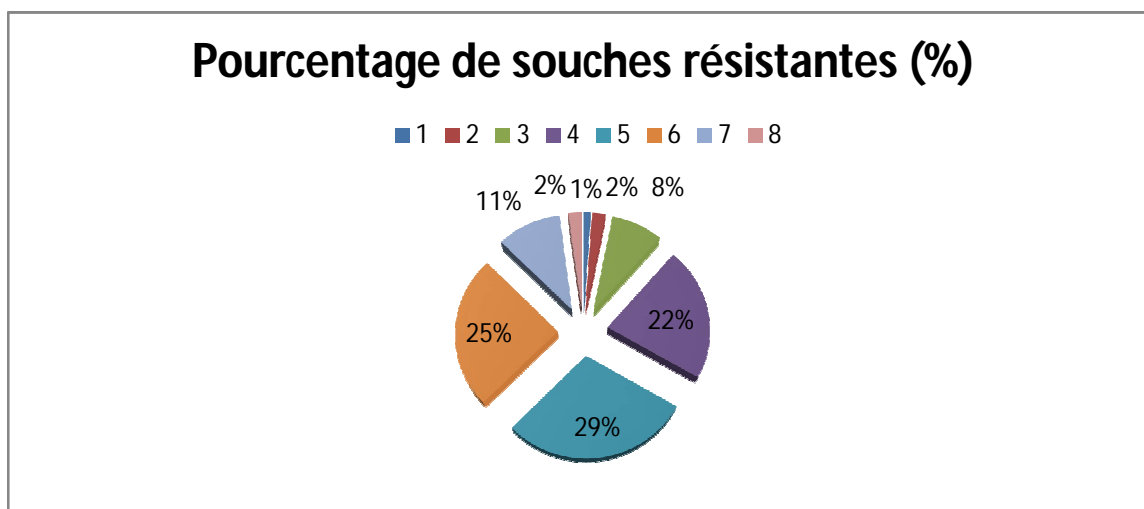


Figure 29 : Pourcentages de multirésistance des souches *E. coli* isolées.

II.8.4. La corrélation entre les résistances

Nous avons aussi étudié l'association entre les résistances (figure 30).

Résultats et discussion

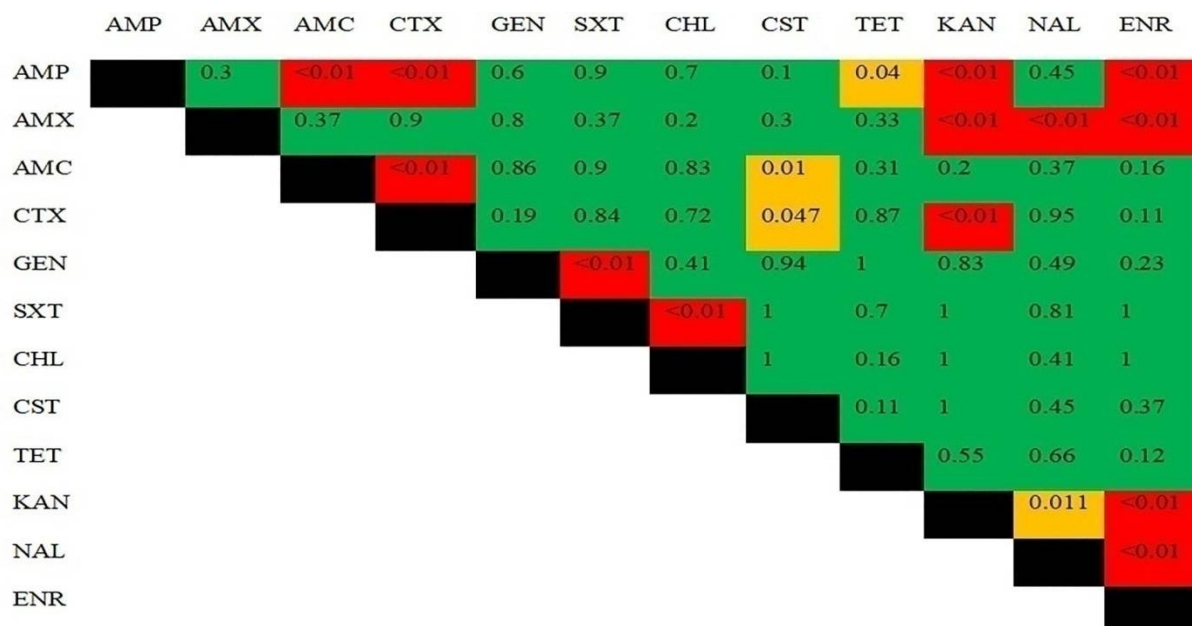


Figure 30 : la corrélation entre les résistances des souches *E. coli* isolées.

Les résultats ont indiqué que le profil de résistance AMP est statistiquement associé à la résistance AMC, la résistance CTX, la résistance TET, la résistance KAN et la résistance ENR ($p < 0,05$). La résistance AMX est associée à la résistance KAN, la résistance NAL et la résistance à l'enrofloxacin ($p < 0,01$). La résistance à l'AMC est associée à la résistance à la CTX et à la résistance à la CST ($p < 0,05$). La résistance CTX est associée à la résistance CST et à la résistance KAN ($p < 0,05$). La résistance GEN est associée à la résistance SXT ($p < 0,01$). La résistance SXT est associée au CHL $p < 0,01$. La résistance KAN est associée à la résistance NAL et à la résistance ENR ($p < 0,05$). La résistance à la NAL est associée à la résistance à l'enrofloxacin ($p < 0,01$).

II.9. La recherche phénotypique des BLSE

Les *E. coli* producteurs de β . lactamase sont apparus dans le monde entier (**Ewers et al., 2012**), et ces enzymes sont actives sur les pénicillines, et les céphalosporines de la première, la deuxième et la troisième génération (**Jacoby., 2009**), telles que la céfuroxime, la ceftazidime et céfotaxime. Cela a une importance pour la santé publique car ces antibiotiques sont cliniquement pertinents et peuvent servir de réservoir des gènes pour les β -lactamases à spectre étendu qui pourraient être transmis à l'homme.

Résultats et discussion

De nombreuses méthodes phénotypiques ont été développées pour détecter la production de BLSE par les entérobactéries. Cependant, il n'est pas encore clair quels tests sont les plus sensibles (**Garrec et al., 2011**)

Sur les 360 prélèvements du lait, 97 souches sont des *E.coli*. 49 parmi les 97 se sont révélées résistantes à au moins une céphalosporine de 3^{ème} génération « CEFOTAXIME » (profil BLSE) avec une prévalence de 50%. Après la recherche des souches BLSE par la technique recommandée par Jarlieret al. (1988).

Toutes les souches, 97 *E.coli* isolées lors de notre étude ont été testées pour la recherche de la betalactamase à spectre élargie (BLSE). La mise en évidence de cette enzyme (BLSE) de classe "A" a été effectuée par le test de synergie comme recommandé par Jarlieret al. (1988). Devant l'absence de l'image de synergie, la production de β -lactamase à spectre étendue est suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques de céphalosporines de troisième génération. La confirmation de ces souches qu'elles sont BLSE est faite par le test de confirmation aussi appelé test du double disque (figure 31 et 32).

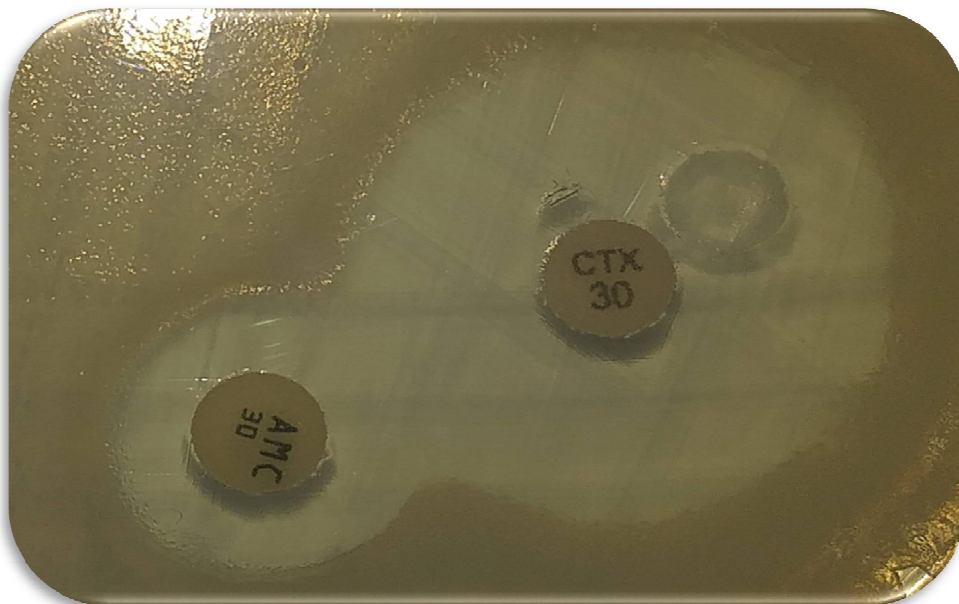


Figure 31 : Souche *E.coli* productrice de β -lactamase à spectre étendu test de synergie
(Photo personnelle).

Résultats et discussion

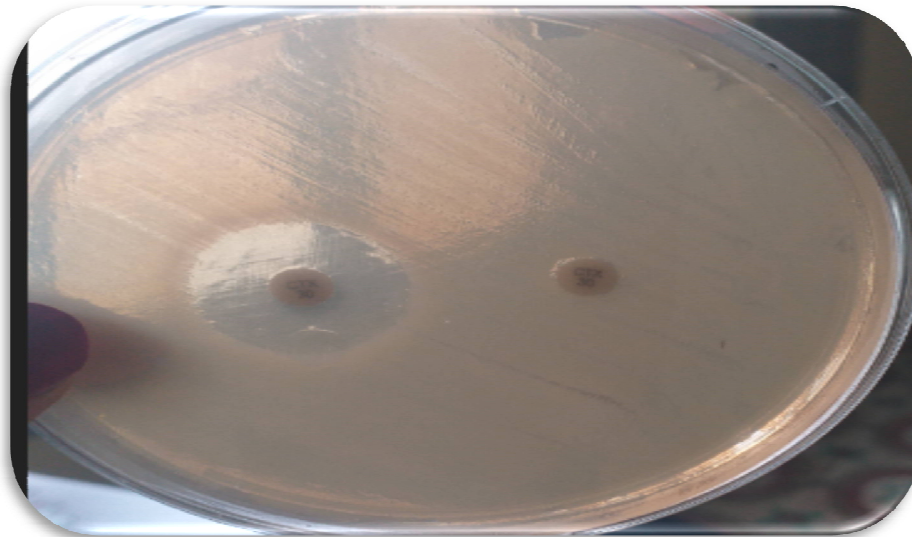


Figure 32 : Souche *E.coli* productrice de β -lactamase à spectre étendu test du double disque positif (Photo personnelle).

Parmi les 97 souches d'*E.coli* isolées dans notre étude, 39 souches ont été détectées phénotypiquement productrice de β -lactamase à spectre étendu de classe A (Inhibées par l'Ac clavulanique), et elles représentent un taux de 33% de l'ensemble de nos souches. Ces souches BLSE de classe A sont donc capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines de 1 ère, 2 ème, 3ème (ex. céfotaxime, ceftazidime, ceftiofur) et 4ème génération (ex. céfépime) génération et les monobactames (ex. aztréonam).

Dans cette étude, la prévalence des *E. coli* producteurs de BLSE est supérieure à celle rapportée par, Dahmen, et al.,(2013)(0.4%) en France , Grami et al. (2014)(10%) et Saidani et al., (2016)(2.5%) en Tunisie, Su et al. (2016) à Taiwan (10.5) et Eisenberger et al., (2018)(4.5%) en Allemagne.

Nos résultats sont presque proches à ce qui a été rapporté par Ali et al. (2016) en Chine (23.5%), cependant, la fréquence obtenue dans notre étude est inférieure à ce qui a été publiée par Tekiner et Özpınar.,(2016)(80%) en Turquie.

Le réseau national de surveillance du ministère de la Santé en Turquie (www.uhes.saglik.gov.tr) a signalé une augmentation de la prévalence d'*E. Coli* producteur de BLSE (33,2% en 2008 et 48,83% en 2013).

L'émergence de ces souches été beaucoup plus précoce en medecine humaine, les premières β -lactamases (pénicillinases à spectre étroit) ont été initialement décrites dans les années 60 chez *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* et ont très vite diffusées parmi d'autres espèces entérobactéries comme rapporté par Bradford (2001).

Résultats et discussion

Devant l'émergence de ces enzymes, de nouvelles β -lactamines stables céphalosporines à spectre élargi ont été développées dans les années 70-80, et leur utilisation intensive en clinique a conduit à l'apparition précoce des résistances. La première β -lactamase capable d'hydrolyser les céphalosporines à spectre élargi a été décrite en 1985 dans une souche de *K. pneumoniae* en Allemagne comme rapporté par Bradford (2001) et Paterson et Bonomo (2005).

En effet, nous assistons à l'émergence de souches *E.coli* productrices de β -lactamase à spectre étendu en production animale, elle est due sans doute à l'introduction de céphalosporine de troisième génération ces dernières années en médecine vétérinaire comme « le ceftiofur », ce qui a permis la sélection des souches résistantes aux céphalosporines de troisième génération et sont donc BLSE.

Anon (2011) et Wasyl et ses collaborateurs (2013) ont signalé des fréquences élevées des *E.coli* productrices BLSE en Pologne, les Pays-Bas et en Espagne.

Les isolats présentaient une résistance associée à l'Amoxicilline (88%), l'ampicilline (84%), la tétracycline (72%), acide nalidixique (88%), enrofloxacin (54%),kanamycine (56%) et l'association amoxicilline et l'acide clavulanique (41%).

Boireau et ses collaborateurs (2018) ont également rapporté des résultats similaires, où les BLSE produisant les bactéries entériques étaient également résistantes à un autre groupe d'antibiotiques, y compris les aminoglycosides, la tétracycline, sulfamides, triméthoprime et chloramphénicol, ce qui concorde avec nos observations où toute nos souches été co-résistantes à l'acide nalidixique et la tétracycline.

Boireau et collaborateurs (2018) ont rapporté des résultats inférieurs où les données recueillies sur *E. coli*, enregistrent des proportions de résistance pour l'amoxicilline (28,1%) et la tétracycline (23,1%). La résistance aux céphalosporines de troisième génération chez les *E. coli* provenant de bovins laitiers était presque nulle en 2006, mais a atteint 2,4 % en décembre 2016.

En comparaison avec une étude française précédente (Botrel et al., 2010 ; données de 2007 à 2008), nous avons systématiquement observé des taux plus élevés dans les niveaux de résistance à l'amoxicilline (82 contre 9,7%), à la tétracycline (67 contre 10,4%) et à la gentamicine (13 contre 0,7%).

Résultats et discussion

Perez *et al.* (2007) ont également rapporté des résultats similaires, où les BLSE produisant les bactéries entériques étaient également résistantes à un autre groupe d'antibiotiques, y compris les aminoglycosides, la tétracycline, sulfamides, triméthoprimine et chloramphénicol, ce qui concorde avec nos observations où toute nos souches été co-résistantes à l'acide nalidixique et la tétracycline.

Lalzampua *et al.* (2014) ont rapporté que le développement de la co-résistance contre d'autres antibiotiques ainsi que des β -lactamines par les souches productrices de BLSE apparaissent généralement dans les grands plasmides (plasmide large), où la plupart des gènes de résistance peuvent coexister simultanément.

Tableau 17 : Profils de sensibilité aux antibiotiques des isolats d'*E. coli* producteurs de BLSE (n = 39) provenant du lait de vaches.

Famille	Antibiotique	Abréviation	charge des disques	R%	S%	I%
B-lactamine	Amoxicilline	AMX	25 μ g	88	9	3
	Amoxicilline-Ac	AMC	20/10 μ g	41	34	25
	Ampicilline	AM	10 μ g	84	0	16
Cephalosporine	Cefotaxime	CTX	30 μ g	100	0	0
	ceftazidime	CAZ	30 μ g	75	25	0
	ceftriaxone	CRO	30 μ g	81	19	0
	Aztréonam	AZT	30 μ g	95	5	0
Aminosides	Gentamicine	GEN	10 μ g	13	84	3
	Kanamycine	K	10 μ g	56	38	6
Phénicolés	Chloramphénicol	CHL	30 μ g	9	82	9
Polypeptides	Colistine	CST	25 μ g	9	85	6
Quinolones	Acide Nalidixique	AN	30 μ g	88	9	3
Fluoroquinolones	Enrofloxacin	ENR	5 μ g	54	25	21
Cyclines	Tétracycline	TET	30 μ g	72	19	9
Sulfaméthoxazole+Triméthoprimine		SXT	1,25/23,75 μ g	3	72	25

II.10.La recherche de gènes codant pour les enzymes BLSE : CTX- M par PCR

La recherche des gènes d'antibiorésistance a concerné particulièrement les isolats d'*E.coli* ayant été détectés bêtalactamase à spectre élargi phénotypiquement, sur la base du test de synergie et du double disque, donc les 39 souches. Les gènes concernés sont le principal groupe phylogenetique codant pour les enzymes BLSE : CTX- M

Résultats et discussion

La figure 33 montre d'électrophorèse du produit de la PCR réalisé pour le gène CTX-M , l'échantillon est dit positif à un gène lorsqu'une bande fluorescente apparait sur sa zone de migration et lorsque cette bande se situe sur la même ligne horizontale que celle de la bande du gène du contrôle positif (celle-ci est repérée grâce à la taille du produit qui s'exprime en paires de bases).

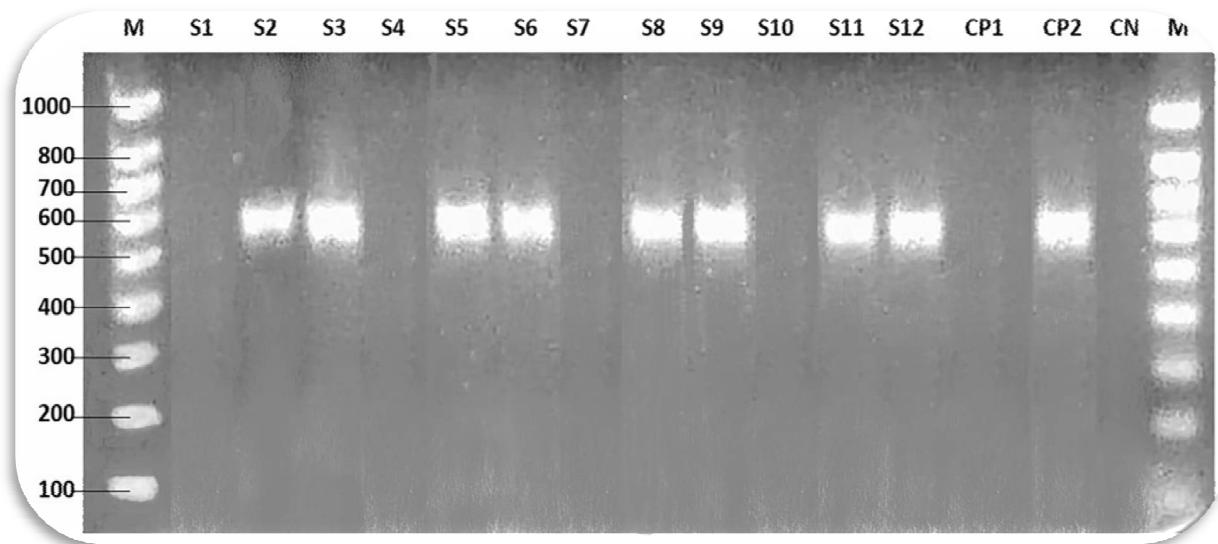


Figure 33 : Profil de migration par électrophorèse sur gel d'agarose du gène *blactxM* (photo personnelle).

Electrophorèse sur gel d'agarose (2%). M : échelle de poids moléculaire (pb). S1, S4, S7, S10 : échantillons négatifs. S2, S3, S5, S6, S8, S9, S11, S12 : échantillons positifs. CP1 : souche CTX-M-1+ ; CP2 : souche CTX-M-2 ; CN : contrôle PCR négatif.

La recherche par PCR des gènes d'antibiorésistances sur les 39 souches *d'E.coli* BLSE a dévoilé la présence d'un gène « CTX- M » pour 27 souches

Parmi nos souches *d'E.coli* BLSE (69.2%) sont porteuses du gène *ctx M* codant pour l'enzyme CTX-M qui hydrolyse préférentiellement le cefotaxime et qui fait partie des BLSE de classe A selon la classification d'ambler, et au groupe fonctionnel 2be selon la classification de Bush-Jacoby-Medeiros.

La prévalence des souches *E.coli* BLSE porteuses du gène **ctx M** enregistrée dans notre étude est de 69.2%. Ce chiffre paraît sensiblement proche de celui rapporté par İsmail Hakkı Tekineret *al.* (2016) 52,7% et Ahmed et Shimamoto.,(2014) (65.5%) en Egypte. Cependant, notre fréquence est inférieure à ceux obtenues par Khoshbakht et al.,2014 en Iran

Résultats et discussion

80.7% , Ali et al.,(2018) (77.78%) en Chine et Eisenberger et al.,(2018) (100%) en Allemagne.

Gniadkowski (2008) rapporte que jusqu'à la fin des années 90, la majorité des BLSE détectées étaient des dérivés de TEM de SHV, et à partir de 1995, de «nouvelles» BLSE (notamment CTX-M) ont émergé de façon explosive chez les entérobactéries et la situation épidémiologique a complètement changé au niveau mondial.

Canton et Coque (2006) rapportent qu'en 15 ans, la diffusion mondiale des BLSE de type CTX-M chez les entérobactéries a explosé de façon extrêmement rapide, d'où le terme de «pandémie CTX-M».

En Turquie, le type de bêta-lactamase le plus fréquemment signalé cliniquement était CTX-M, suivi de TEM et SHV (**Nazik et al.,2011**).

La large diffusion des CTX-M a changé considérablement l'épidémiologie des BLSE dans le milieu hospitalier, mais aussi celle dans la communauté avec l'émergence de souches productrices de BLSE, principalement des souches de *E. coli* productrices de CTX-M, de plus, le portage digestif de souches productrices de BLSE est devenu non négligeable avec un réservoir de BLSE animal important comme signalé par Rossolini *et al.* (2008).

Concernant les BLSE détectées chez les entérobactéries, d'importants changements ont eu lieu depuis ces dernières années il y'a une explosion mondiale des BLSE de type CTX-M avec supplantation des BLSE de type TEM/SHV dans la plupart des pays, changement de la bactérie hôte de *K. pneumoniae/Enterobacter* spp. vers *E. coli* ; augmentation très nette des infections communautaires dues à des bactéries productrices de BLSE.

Dans notre étude sur les 97 souches *E.coli* isolées 27 (27.84%) ce sont révélées BLSE et elles hébergent toutes le gène *bla_{ctx M}* qui code pour l'enzyme BLSE CTX-M-2, l'émergence de ces souches chez les vaches laitières est due vrai semblablement au manque d'hygiène dans les exploitations laitières et l'utilisation incontrôlée d'antibiotiques sont les principaux facteurs pour la sélection et la propagation des ESBL dans les troupeaux. Ainsi l'introduction de céphalosporine de troisième génération en médecine vétérinaire, et constitue un risque réel pour les animaux eux-mêmes et pour les éleveurs, le personnel des literies et les consommateurs comme appuyer par plusieurs auteurs.Ces traitements antibiotiques peuvent ainsi favoriser la dissémination de gènes situés sur des éléments (plasmides, transposons) aux animaux puis à la chaîne alimentaire d'origine animale (**Mitchell et al.,2015**).Cela pourrait conduire à la colonisation du microbiote intestinal humain par des bactéries *E.coli* produisant

Résultats et discussion

des BLSE, lorsque ces aliments sont directement consommés sans subir de processus thermique, ou utilisés pour la production de fromage au lait cru. (Allen et al., 2010; Overdevest et al., 2011; Bonelliet al., 2014). En raison de cette menace, le Codex Alimentarius Commission a établi un groupe de travail intergouvernemental (**Doyle et al., 2013**).

Suite à cela, en 2014, le Comité standard des médecins européens (CPME), le Conseil de European Dentists (CED) et la Fédération des vétérinaires d'Europe (FVE) est un communiqué de presse commun à toutes les autorités pour gérer le problème des entérobactéries productrices d'ESBL (www.fve.org).

Nos résultats soulignent également l'importance de la mise en place des programmes de surveillance précis pour tracer et contrôler toute autre diffusion de clones d'ESBL dans le secteur laitier en Algérie.

Conclusion et recommandations

Conclusion et recommandations

La mammité est considérée comme l'une des pathologies les plus importantes, fréquentes et coûteuses affectant les vaches laitières et la plus pénalisante pour les élevages laitiers. Cette pathologie multifactorielle représente, l'ennemi numéro un de l'industrie de la production laitière.

Pour cela, la connaissance de la nature et la fréquence des germes responsables présentent un intérêt pour la définition de la stratégie de lutte. Parmi les germes rencontrés, les entérobactéries viennent en tête des germes d'environnement et font actuellement une augmentation nette de la prévalence des mammites.

Dans le cadre de notre étude on s'est concentré d'une part sur l'isolement de l'espèce *Escherichia coli* à partir du lait cru de vaches et la caractérisation bactériologique de cette espèce impliquée dans les mammites, ainsi, la détermination de leur profil de résistance et de sensibilité vis-à-vis divers antibiotiques avec recherche des souches *E.coli* productrices de BLSE. D'une autre part étudier l'impact de la présence d'*Escherichia coli* sur certains paramètres tenant à la quantité et la qualité du lait.

L'emploi de différents outils de diagnostic (Examen clinique, CMT et l'analyse bactériologique) sur les prélèvements de lait des vaches a met en lumière que les mauvaises conditions d'hygiène du bâtiment d'élevage et la mauvaise conduite du troupeau constituent les probables facteurs de risque de la survenue de cette pathologie.

A la lumière des résultats obtenus, il s'avère que les mammites sub-cliniques sont bien présentes dans nos élevages avec un taux de 66%. Les résultats de l'enquête épidémiologique ont permis de mettre en évidence l'effet significatif ($p < 0,05$) du rang de lactation, de certaines race et du stade de lactation sur la prévalence des mammites sub-cliniques.

Il est à noter également que, la teneur en TP et TB dans le lait analysé régresse significativement ($P < 0,01$) en cas de mammité, ainsi que la production laitière ($P < 0,05$).

Nos résultats montrent que, *E. coli* est présente à une fréquence de 26.9 % dans le lait, Ainsi, l'étude de l'antibiorésistance de 97 souches isolées révèle l'existence de résistances non négligeables à l'action de nombreuses molécules d'antibiotiques avec un niveau d'inefficacité qui dépasse les 50% à l'encontre de la tétracycline, l'acide nalidixique, l'ampicilline, l'amoxicilline, la céfotaxime et l'enrofloxacin

Les isolats ayant présenté une sensibilité réduite à l'encontre de la céfotaxime ont

Conclusion et recommandations

fait l'objet d'une confirmation phénotypique sur la base du test du double disque. Un taux de positivité de 78% a été enregistré. A cet effet, 39 souches ont été déclarées potentiellement productrices de bêtalactamase à spectre élargi de classe A.

La caractérisation génotypique des souches d'*E. coli* BLSE a consisté essentiellement en une recherche par PCR d'un gène d'antibiorésistance *bla_{CTX M}*, codant pour l'enzyme BLSE : CTX M. Le résultat a dévoilé la présence d'un gène de résistance « *ctx M* » chez la totalité des souches testées 27(69.2%). L'émergence des souches *E. coli* productrices de betalactamase à spectre étendu ne sera pas sans conséquence sur la santé animale et humaine.

Il est bien évident de conclure que les résultats de la présente étude affirment nos spéculations sur l'incidence de la maladie qui s'est notablement accrue, et qui reste imputable

Il serait donc important d'entreprendre une action de sensibilisation au bon usage de ces médicaments pour un traitement bien adéquat et, pourquoi pas, émettre des recommandations nationales d'établir des normes pour le contrôle des pratiques d'hygiène dans les fermes laitières pour réduire le taux de contamination environnementale des vaches.

Références Bibliographique

A

Abdennebi EH., (2006). Antibactériens en médecine vétérinaire. Actes Editions Maroc, 303 pages

Abraham EP., Chain E., (1940). An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Letters to the Editors, Lancet, Dec. 5th.

AFNOR., (1985). Contrôle de la qualité des produits laitiers –Analyses physiques et chimiques, 3^{ème} édition.

Agabriel, G., Coulon, J.B., Marty, G., Cheneau, N. (1990). Facteurs de variation du taux proteique du lait de vache etude dans des exploitations du puy-de-Dome. INRA Prod, Anim., 3(3) ,137-150.

Aggad H, Mahouz F, Ahmed Ammar Y. et Kihal M., (2009). Evaluation de la qualité hygienique du lait dans l'ouest algerien. Revue Med. Vet., 160, 12. pp : 590-595.

Aggad H., Ahmed Ammar Y., Hammoudi A., Kihal M., (2010).AntimicrobialResistance of Escherichia coli Isolated from Chickens with Colibacillosis Global Veterinaria 4 (3): 303-306.

Ahmed A.M., Shimamoto T., (2015). Molecular analysis of multidrugresistance in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7isolated from meat and dairy products. *Int J Food Microbiol* ,193:68–73.

Ahmed A. A., et Sabiel Y. A., (2016). Detection of microbial contamination of processed beef meat by using API strips and automated Vitek 2 compact system. *Microbiology Research Journal International*, 1-8. Retrieved from <https://www.journalmrji.com/index.php/MRJI/article/view/5491>.

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

Allen HK., Donato J.,Wang HH.,Cloud-Hanse KA., Davies J., Handelsman J., (2010). Call of the wild : antibiotic resistance genes in natural environments .Nat Rev Microbiol , 8:251–259.

Ali T., Ur Rahman L., Zhang M., Shahid S., Zhang G., Liu J.,Gao, and B. Han., (2016). ProducingEscherichiacolifrom cows suffering mastitis in china contain clinical class1 integrons with CTX-M linked to ISCR1. Front. Micro-biol. 7:1931.

Ameen F., Shorouk A., Reda Sahar A. El-Shatoury Emad M., Riad Mohamed E., Enany Abdullah A., Alarfaj C.,(2019).Prevalence of antibiotic resistant mastitis pathogens in dairy

Références Bibliographique

cows in Egypt and potential biological control agents produced from plant endophyticactinobacteria Saudi Journal of Biological Sciences 26 (2019) 1492–1498.

Anon., (2011).The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in the European Union in 2009. EFSA Journal, 9, 2154.

Anonyme., (1999). Relevé épidémiologique mensuel. Institut national de la santé publique. Volume X. Num2. P 12.

Argaw A., (2016). Review on epidemiology of clinical and subclinical mastitis on dairy cows. Food Science and Quality Management, 52, 56-65. Retrieved from <https://core.ac.uk/download/pdf/234684264.pdf>.

Arlet G., and Philippon A., (2003). Les nouvelles β -lactamases à l'aube du troisième millénaire. *Rev Franç Lab.* 352 : 41-55.

Avrain L., Humbert F., L'Hopsitalier R., Sanders P., Vernozy- Rozand C., Kempf I., (2003).Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers: Association with production type and antimicrobial use. *Vet Microbiol*; 96 : 267-76.

B

Badinand F., (1994).Maitrise du taux cellulaire du lait.Recueil de médecine vétérinaire numéro spécial : Qualité de lait. 491: 640.

Barbour E.K., Kassabian T.J., Shaib H., Kassaify Z., Iyer A., Azhar E., Harakeh S.,Kumosani T., (2015). The Significance of *Escherichia coli*-induced Mastitis in Cows Associated with the Presence of Virulence Genes and Wide Range-resistance to Twenty Antimicrobials, *Intern J Appl Res Vet Med • Vol. 13, No.*

Beerens et Luquet., (1987). Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et des produits laitiers, Paris (France) Technique et Documentation – Lavoisier

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. et Reut. *ASN, Vol. 7, No 1, Pages 26–32.*

Bengtsson B., Unnerstad H.E., Ekman T., Artursson K., Nilsson-Ost M., Waller K.P.,(2009). Antimicrobial susceptibility of udderpathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows. *Vet Microbiol*; 136:142–149.

Références Bibliographique

Berg C., (2001). Infections intramammaires des vaches laitières en fin de lactation : nature et sensibilité aux antibiotiques des bactéries pathogènes isolées. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Faculté de Médecine Nantes, 101p.

Bergonier D., (2014). Les mammites, cours de 3^Ème année, ENVT.

Berthelot X, bergonier D., (2001). Fiche diagnostic bactériologique des mammites : pourquoi comment et qu'en attendre. Bulletin des GTV num 12 (sept/oct 2001) 31 :33.

Bettelheim KA., (1992). The genus *Escherichia*. In: Baloxs A., Trüpen H.G., Dworkin M., Harden X., Schleifer K.H The prokaryotes. Springer-Verlag, New York, 2696-2736.

Beutin L., (1999). *Escherichia coli* as a pathogen in dogs and cats. *Vet Res*, **30**:285–298.

Billon P, Menard J.L, Berny F, Gaudin V., (2001). La détection des mammites par mesure de conductivité électrique du lait. bulletin des GTV numéro 12 (sept/nov 2001) 35-39.

Birhanu A., Diriba L., Iyob I., (2013). Study of bovine mastitis in asella government dairy farm of Oromia Regional state, South Eastern Ethiopia. International Journal of Current Research and Academic Review, 1: 134-145.

Blum J. W., H. Dosogne D. Hoeben F. Vangroenweghe H. M. Hammon R. M. Bruckmaier C., Burvenich., (2000). “Tumor Necrosis Factor-Alpha and Nitrite/nitrate Responses during Acute Mastitis Induced by *Escherichia coli* Infection and Endotoxin in Dairy Cows.” Domestic Animal Endocrinology 19, no. 4, 223–35.

Blum S. E., Leitner G. (2013). Genotyping and virulence factors assessment of bovine mastitis *Escherichia coli*, Veterinary Microbiology, Volume 163, Issues 3–4 , Pages 305-312, ISSN 0378-1135, <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.12.037>.

Blum S. E., Heller E. D., Jacoby S., Krifucks O., Leitner G. (2017). Comparison of the immune responses associated with experimental bovine mastitis caused by different strains of *Escherichia coli*. The Journal of Dairy Research, 84(2), 190.

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. <https://doi.org/10.1111/zph.12412>.

Bonelli R.R., Moreira B.M., Picão R.C., (2014). Antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae in South America :history ,current dissemination status and associated socio economic factors .Drug Resist Update.2014;17:24–36.

Références Bibliographique

- Bonnet R., (2004).** Growing group of extended-spectrum-beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48: 1–14.
- Boonyasiri A, Tangkoskul T, Seenama C, Saiyarin J, Tiengrim S, Thamlikitkul V., (2014).** Prevalence of antibiotic resistant bacteria in healthy adults, foods, food animals, and the environment in selected areas in Thailand. *Pathog Glob Health* ;108(5): 235.
- Bosquet G, Faroult B, Labbé J-F, Le Page P, Sériey F., (2013).** Référentiel Vétérinaire 2013 pour le traitement des mammites bovines. SNGTV, Paris, France. 100 p.
- Botrel M.-A., M. Haenni E. Morignat P. Sulpice J.-Y. Madec and D. Calavas., (2010).** Distribution and antimicrobial resistance of clinical and subclinical mastitis pathogens in dairy cows in Rhone- Alpes, France. *Foodborne Pathog. Dis.* 7:479–487. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0425>.
- Botrel M.A., Haenni M., Eric Morignat E., Sulpice P., Jean-Yves Madec J;Y., and Calavas D., (2009).** Distribution and Antimicrobial Resistance of Clinical and Subclinical Mastitis Pathogens in Dairy Cows in Rhône-Alpes, France, *FOODBORNE PATHOGENS AND DISEASE* Volume 7, Number 5, 2010 Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/fpd.0425.
- Botrel M.A., Haenni M., Morignat E., Sulpice P., Madec J.Y., Calavas D., Hinthong W., Pumipuntu N., Santajit S., Kulpeanprasis S., Buranasinsup S., Sookrung N., Chaicumpa W., Aiumurai P., and Hinthong N.I. et al., (2017).** Detection and drug resistance profile of *Escherichia coli* from subclinical mastitis cows and water supply in dairy farms in Saraburi Province, Thailand. *PeerJ* 5:e3431; DOI 10.7717/peerj.3431.
- Bouaziz O., (2007).** Contribution à l'étude des infections intramammaires de la vache laitière dans l'est Algérien. Thèse de doctorat en sciences vétérinaires : pathologies de la reproduction. Département des sciences vétérinaires, université de Constantine, 296p.
- Boufaïda Asnougne Z, Butel M. J., et Ouzrout R., (2012).** Prévalence des principales bactéries responsables de mammites subcliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, vol. 65, no 1-2, p. 5-9.
- Boujenane, I., 2003.** Programme National de transfert de technologie en Agriculture (PNTTA) Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, B.P :6446-Instituts, Rabat, Maroc.
- Boutet P., Fabrice B., Pierre L., (2006).** “La mammite bovine : de l'initiation à la résolution.” *Annales de Médecine Vétérinaire* 150, no. 1.
- Bradford P.A., (1999).** Automated thermal cycling is superior to traditional methods for nucleotide sequencing of *bla*SHV genes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 2960-2963.

Références Bibliographique

- Bradford P.A., (2001).** Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* 14: 933-51.
- Bradley A.J., Green M.J.,(2000).** A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. In: *Journal of Dairy Science*, Vol.83, 2001, p1957-1965.
- Bradley A. J., Green M. J., (2001).** Adaptation of *Escherichia coli* to the Bovine Mammary Gland.” *Journal of Clinical Microbiology* 39, no. 5, May 1, 2001: 1845–49.
- Bradley A.J., (2003).** Bovine mastitis: an evolving disease. *The Veterinary Journal*, 2003, 164 (2)- 116:128.
- Brisse S., Verhoef J.,(2001).** Phylogenetic diversity of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* clinical isolates revealed by randomly amplified polymorphic DNA, *gyrA* and *parC* genes sequencing and automated ribotyping. *Int J Syst Evol Microbiol.* 51: 915-924.
- Bryan A., Shapir N., Sadowsky M.J., (2004).** Frequency and distribution of tetracycline resistance genes in genetically diverse, nonselected, and nonclinical *Escherichia coli* strains isolated from diverse human and animal sources. *Appl Environ Microbiol* 2004; **70**(4): 2503-7.
- Burton JL, et RJ Erskine., (2003).** Immunity and mastitis. Some new ideas for an old disease .In: *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, vol. 19 (1) ,p1-45.
- Burton Jeanne L., and Ronald J., Erskine., (2003).** “Immunity and Mastitis. Some New Ideas for an Old Disease.” *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 19, no. 1, March 2003: 1–45, v.
- Burvenich C., M.J. Paape A.W., Hill A.J., Guidry R.H., Miller R., Heyneman, W.D., Kremer and A. Brand., (1994).** “Role of the Neutrophil Leucocyte in the Local and Systemic Reactions during Experimentally Induced *E. Coli* Mastitis in Cows Immediately after Calving.” *The Veterinary Quarterly* 16, no. 1, 45–50.
- Bush K., Jacoby G.A., Medeiros A.A., (1995).** A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherap*, vol. 39(6):1211–1233.

Références Bibliographique

C

Cantón R., Coque T.M., (2006). The CTX-M β -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol*, 9:466-75.

Capet M., (2011). Identification rapide et spécifique des bactéries responsables de mammite par méthode PCR (Polymérase Chain Reaction) *Renc. Rech. Ruminants*, 18. <http://www.journees3r.fr/spip.php?article3324>.

Cavallo J.D., Faber R., Jehl F., Rapp C., and E. Grabbe. (2004). Betalactamines Betalactam antibiotics. *EMC-Maladies infectieuses*. 1: 129-202.

Chehabi C.N., Nonnemann B., Astrup L.B., Farre M., and Pedersen, K.,(2018). In vitro Antimicrobial Resistance of Causative Agents to 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. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15135>.

Collignon P. J.H., Powers T.M. Chiller A., Aidara-Kane and Aarestrup F.M., (2009). World Health Organization ranking of antimicrobials according to their importance in human medicine: A critical step for developing risk management strategies for the use of antimicrobials in food production animals. *Clin. Infect. Dis.* 49 :132–141. <https://doi.org/10.1086/599374>.

Courvalin P., (2008). La résistance des bactéries aux antibiotiques: Combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. *Bull. Acad Vét. France*. Tome 161 - N°1.

Croize J., (2005): La résistance par Efflux, 1-33.

Croxen M.A Et Finlay B.B., (2010). Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity. *Nat.Rev. Microbiol*, 8 :26-38.

Croxen M. A., Law R.J., Scholz R., Keeney K.M., Wlodarska M., and Finlay B. B. (2013). Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic Escherichia coli. *Clinical Microbiology Reviews*, 26, 4, 822-880.

D

Dahmen S.V., Metayer E., Gay J.Y., Madec and M. Haenni., (2013). Characterization of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-carrying plasmids and clones of Enterobacteriaceae causing cattle mastitis in France. *Vet. Microbiol.* 162:793–799.

Références Bibliographique

- Datta N., and Kontomichalou P., (1965).** Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature* 208: 239-241.
- Decousser J.W., Poirel L., and Nordmann P., (2001).** "Characterization of a chromosomally encoded extended-spectrum class A beta-lactamase from *Kluyvera cryocrescens*". *Antimicrob. Agents Chemother.* 45(12): 3595-3598.
- Dego, O.K. and Tareke, F.(2003).**Bovine Mastitis in selected areas of southern Ethiopia, *Tropical Animal Health Production*, (3) 197-205.
- Dego O. K., (2020).** Bovine Mastitis: Part I. In *Animal Reproduction in Veterinary Medicine*. IntechOpen. Retrieved from <https://www.intechopen.com/online-first/bovine-mastitis-part-i>.
- De Jong, F. El, S. Simjee, H. Moyaert, M. Rose, M. Youala, E. Siegwart, V., (2018).** Study, Monitoring of antimicrobial susceptibility of udder pathogens recovered from cases of clinical mastitis in dairy cows across Europe : VetPath results, *Vet. Microbiol.* 213 73–81, <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.11.021>.
- Demoré B., Grare M., Duval R.,(2018).**Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. *Pathologie infectieuse : Partie VIII : Chapitre 42* https://www.elsevier.com/_data/assets/pdf_file/0003/1013844/51-ch42-753-7909782294750779.pdf
- Dogan B., Rishniw M., Bruant G., Harel J., Ynte H., Kenneth W. Simpson., (2012).**Phylogroup and lpfA influence epithelial invasion by mastitis associated *Escherichia coli*, *Veterinary Microbiology*, Volume 159, Issues 1–2, 2012,Pages 163-170, ISSN 0378-1135, <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.03.033>.
- Döpfer D., Barkema H.W., Lam T.J.G.M., Schukken Y.H.W., (1999)** Gaastra,Recurrent Clinical Mastitis Caused by *Escherichia coli* in Dairy Cows, *Journal of Dairy Science*, Volume 82, Issue 1 ,Pages 80-85,ISSN 0022-0302, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75211-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75211-2).
- Döpfer D., Almeida R.A., Lam T.J.G.M., Nederbragt H., Oliver S.P., Gaastra W., (2000).** Adhesion and invasion of *Escherichia coli* from single and recurrent clinical cases of bovine mastitis in vitro,*Veterinary Microbiology*,Volume 74, Issue 4,Pages 331-343,ISSN 0378-1135, [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(00\)00191-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(00)00191-7).
- Doyle, M.P, Loneragan, G.H., Scott,H.M.,Singer, R.S.,(2013).**Antimicrobial resistance: challenges and perspectives .*Compr Rev Food SciFoodSaf*;12:234–248.
- Dupont J. P. L., (1980).** L'infection mammaire inapparente : agents microbiens en

Références Bibliographique

cause et antibiogramme. Thèse : Méd. Vét: Alfort; 53.

Durel L, Faroult B, Lepoutre D, Brouillet P (.2003). Mammmites des bovins (cliniques et subcliniques) : La dépêche : démarches diagnostiques et thérapeutiques (Supplément technique n° 87).

Durel L, Faroult B, Lepoutre D, Brouillet P, Le Page Ph.,(2004). “Mammmites des bovins (cliniques et subcliniques). Démarches diagnostiques et thérapeutiques.” La Dépêche Technique. Supplément technique 87, Décembre 2003 to January 2004: 39 p.

Durel I, Guyot H, Théron L. Vade-mecum des mammmites bovines., (2011). Éditions Med'Com, Paris, France. 270 p.

E

Eisenberger, D., A. Carl, J. Balsliemke, P. Kampf, S. Nickel, G. Schulze, and G. Valenza. (2018). Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from milk samples of dairy cows with mastitis in Bavaria, Germany. *Microb. Drug Resist.* 24:505–510.

EFSA., (2010). Scientific report of EFSA. The Community Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from animals and food in the European Union in 2004-2007. *EFSA Journal* 2010; 8 (4):1309.

El-gamal, M.I., I. Brahim, N. Hisham, R. Aladdin, H. Mohammed, and A. Bahaaeldin. (2017). European Journal of Medicinal Chemistry Recent updates of carbapenem antibiotics. *Eur. J. Med. Chem.* **131**: 185-195.

Elhani D., (2012). Les bêta-lactamases à spectre étendu : le défi s'accroît. *Ann Biol Clin.* 70(2). 117-40. Encyclopédia Britannica. Antibiotic resistance. 2016. <https://www.britannica.com/science/antibiotic-resistance>.

Erskine R.J., Walker R.D., Bolin C.A., Barlett P.C. and White D.G. (2001). Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. *J. Dairy Sci.* 85:1111-1118.

Escherich T., (1885). Die Darmbacterium des Neugeborenen und Säuglings. *Fortschritte der Medizin.* 3: 515

Euzéby, J.P., (2004). Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. <http://www.bacdico.net> (Consulté le 22 février 2013).

Références Bibliographique

Ewers C., Bethe A., Semmler T., Guenther S., Wieler L.H., (2012). Extended spectrum β -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective. *ClinMicrobiolInfect* ;18(7): 646-55.

Ewers C, Li G., Wilking H., Kießling S., Alt K., Antão E.M., Laternus C., Diehl I., Glodde S., Homeier T, Böhnke U., Steinrück H., Philipp H.C., Wieler L.H,(2007). pathogenic A., uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: How closely related are they?, *International Journal of Medical Microbiology*, Volume 297, Issue 3, Pages 163-176, ISSN 1438-4221, <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.01.003>.

F

Fabre J.M., Berthelot, X., Morvan, H., Lebret, P., Blanc, M.F., Blanc, M.C. (1991). Estimation de la fréquence des différents germes responsables d'infections mammaires dans le Sud-Ouest de la France. *Revue Med. Vet.*, 142 : 823-829.

Fairbrother J.M. and Nadeau E., (2010). Colibacillosis. In *Infectious and Parasitic Diseases of Livestock*. Lefèvre PC, Blancou J, Chermette R, Uilenberg G, eds. Lavoisier. Vol. 2, Chapter 74: 917-945.

Fagiolo A., et Lai O., (2007). Mastitis in buffalo. *Italian Journal of Animal Science*, 6(sup2), 200-206. <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.4081/ijas.2007.s2.200>.

Faroult B, Lepoutre D, Brouillet P, Le Page Ph.,(2003). “Mammites des bovins (cliniques et subcliniques). Démarches diagnostiques et thérapeutiques.” *La Dépêche Technique*. Supplément technique 87, Décembre 2003 to January 2004: 39 p.

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 B, Landais E, Coulon JB, Lescourret F.,(1994). Incidence des troubles sanitaires chez la vache laitière : bilan de 20 années d'observation dans 3 troupeaux expérimentaux. *INRA Prod. Anim*, vol.7 (3),p 191-206.

Fazela,F., Jamshidib,A., Khoramiana, B. (2019). Phenotypic and genotypic study on antimicrobial resistance patterns of *E. coli* isolates from bovine mastitis/ journal homepage: www.elsevier.com/locate/micpath/ *Microbial Pathogenesis* 132 355–361/ Iran.

Références Bibliographique

Fernandes Larissa G., Zanardo Newton N., Galvão Isabel A., Carvalho Luis Augusto Nero Maria Aparecida S., Moreira., (2011). Escherichia coli from clinical mastitis: serotypes and virulence factors. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 23(6) 1146–1152. DOI: 10.1177/1040638711425581 <http://jvdi.sagepub.com>.

Ferney J, Oudar J, DE Saint Aubert G. (1966). Diagnostic bactériologique des mammites.

Finche R.G., D. Greenwood, R. J. Whitley., and S. R. Norrby. (2010). Antibiotic Chemotherapy *e-book*. Elsevier Health Sciences.

Fischbach M.A., Walsh C.T. (2009) Antibiotics for emerging pathogens. Science 325(5944), 1089-1093

Flaudrois, J.P., (2004). Bactério Géné /croissance bactérienne. Cours de Bactériologie Médicale DCEM1UFR Médecine Lyon Sud-Laboratoire de biométrie .P :1-3-10.

Freitag, C., Michael, G.B.,Kadlec, K., Hassel, M. and Schwarz, S. (2017). Detection of plasmid-borne extended-spectrum-lactamase (ESBL) genes in Escherichia coli isolates from bovine mastitis. Vet. Microbiol. 200:151–156.15.

G

Gallagher, J.C., and C. MacDougall. (2011). Antibiotics Simplified. Jones and Bartlett Learning.

Gambo H et Agnemetchike C., (2001).Dépistage de mammites subcliniques chez des vaches Goudali en lactation au Nord Cameroun. Revue Élev. Méd. vét. Paystrop. 54 (1): 5-10.

Garcia Migura L., Hendriksen RS , Fraile L.,Aarestrup FM.,(2014). .Antimicrobial resistance of zoonotic and commensal bacteria in Europe :the missing link between consumption and resistance in veterinary medicine.VetMicrobiol.2014;170:1.

Garnacho-Montero J., Ortiz-Leyba C., Jimenez-Jimenez F.J., Barrero-Almodovar A.E., Garcia-Garmendia J.L., Bernabeu-Wintell M., Gallego-Lara S.L., Madrazo-Osuna J., (2003).Treatment of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin : a comparison with imipenem-susceptible VAP. Clin. Infect Dis. 36 (9), 1111-1118.

Garrec H., DrieuxRouzet L., Golmard, J.L.,Jarlier V.,Robert J., (2011).Comparison of nine phenotypic methods for detection of extended-spectrum-lactamase Production by Enterobacteriaceae .J ClinMicrobiol;49:1048–1057.

Gebrewahid, T.T., Abera, B.H., Menghistu, H.T. (2012).Prevalence and Etiology of Subclinical Mastitis in Small Ruminants of Tigray Regional State, North Ethiopia. Vet. World, 5, 103-109.

Références Bibliographique

- Ghanbarpour R., Oswald E., (2010).** Phylogenetic distribution of virulence genes in *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis in Iran, *Research in Veterinary Science*, Volume 88, Issue 1, 2010, Pages 6-10, ISSN 0034-5288, <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2009.06.003>.
- Ghebru H., (1988).** Contribution à l'étude du pouvoir pathogène des *Escherichia coli*. Mémoire de maîtrise es sciences vétérinaires en microbiologie immunologie, Nantes.
- Giannechini, R., Concha C., Rivéro, R., Delucci, I., Moreno Lopez, J., (2002).** Occurrence of clinical and subclinical mastitis in dairy herds in the West Littoral Region in Uruguay. *Act. Vet. Scand.*, 43 (4) : 221-230.
- Gilcrease E. B., and 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. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682217304245>.
- Gniadkowski M., (2008).** Evolution of extended-spectrum β -lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect*, 14:11-32.
- Gouvêa R, dos Santos FF, de Aquino MHC, de Almeida Pereira VL., (2015).** Fluoroquinolones in industrial poultry production, bacterial resistance and food residues: a review. *Rev Bras CiencAvic*; 17: 1-10.
- Grami R., S. Dahmen W., Mansour W., Mehri M., Haenni M., Aouni and J.Y., Madec., (2014).** blaCTX-M-15-carrying F2: A-B- plasmid in *Escherichia coli* from cattle milk in Tunisia. *Microb. Drug Resist.* 20:344–349.
- Greatorax JS., Thorne GM., (1994).** Humoral immune responses to Shiga-like toxins and *Escherichia coli* O157 lipopolysaccharide in hemolytic-uremic syndrome patients and healthy subjects. *J Clin Microbiol.* 32, 1172-1178.
- Grimont PAD., (1987).** Taxonomie des *Escherichia*. *Méd. Mal Infect (Numéro spécial)*. 17, 6-10.
- Gualerzi, C.O., L. Brandi. A. Fabbretti, and. C., L. Pon. 2013.** Targets, mechanisms and resistance. John Wiley and Sons.
- Guardabassi, L., and P. Courvalin. (2006).** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin* (pp. 1-18). American Society of Microbiology.
- Gyles CL., (1994)** *Escherichia coli* in domestic animals and humans. Cab international 649 pages.

Références Bibliographique

Gyles CL., (2007) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* : an overview . J. Anim. Sci. 85 (Supplement

Gyles C.L., Fairbrother J.M., (2008). Escherichia Coli, in: Gyles, Carlton L., Prescott, J.F., Songer, J.G., Thoen, C.O. (Eds.), Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Blackwell Publishing, pp. 193–223.

Gyles C.L., Fairbrother J.M., (2010). Escherichia Coli, in: Gyles, Carlton L., Prescott, J.F., Songer, J.G., Thoen, C.O. (Eds.), Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Blackwell Publishing, pp. 267-308.

H

Hacker J., Hentschel U., and Dobrindt U., (2003). Prokaryotic chromosomes and disease. Science 301, 790–793.

Haeggman S., Löfdahl S., Paauw A., Verhoef J., Brisse S., (2004). Diversity and evolution of the class A chromosomal beta-lactamase gene in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48: 2400-2408.

Haftu, R., Taddele, H., Gugsu, G.(2012). Prevalence, bacterial causes, and antimicrobial susceptibility profile of mastitis isolates from cows in large-scale dairy farms of Northern Ethiopia. *Trop Anim Health Prod*44, 1765–1771. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0135-z>.

Hammond, D.S., Schooneveldt, J.M., Nimmo, G.R., Huygens, F., and Giffard, P.M., (2005). *bla*SHV genes in *Klebsiella pneumoniae*: different allele distributions are associated with different promoters within individual isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 256-263.

Hanzen. CH., (2000) « Propédeutique et pathologie de la reproduction mâle et femelle biotechnologie de la reproduction et pathologie de la glande mammaire » 4^{ém} édition 2000 université de liège.

Hanzen, C. (2009). Propédeutique de la glande mammaire : sémiologie, diagnostic individuel et de troupeau. Liège, Belgique, Université de Liège, p. 11.

Hanzen,C.H.(2013). Physio-anatomie et propédeutique de la glande mammaire Symptomatologie, étiologie et thérapeutiques individuelles et de troupeau des mammites. *Cours de Thériogenologie des animaux de production.Université de Liège.Faculté de Médecine Vétérinaire*, 2013, p7-9.

Références Bibliographique

- Harini H and Sumathi B.R., (2011).** Screening of bovine milksamples for sub-clinical mastitis and antibiogram of bacterial isolates. *Veterinary World* 4: 358-359.
- Helali, A., (2002).** Pharmacologiefondamentale et Clinique à l’usage des étudiants en médecine Santé Collection , ENAG/ éditions, 183 p.
- Hendriksen R. S., D. J. Mevius, A. Schroeter, C. Teale, D. Meunier, P. Butaye, A. Franco, A. Utinane, A. Amado, M. Moreno, C. Greko, K. Stark, C. Berghold, A.-L. Myllyniemi, D. Wasyl, M. Sunde, and F. M. Aarestrup. (2008).** Prevalence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens isolated from cattle in different European countries: 2002–2004. *Acta Vet. Scand.* 50:28. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-50-28>.
- Hill A. W.,(1994).** “Escherichia coli mastitis.” in : Carlton L. Gyles, Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals, Fourth Edition ed. Escherichia coli in domestic animals and humans, CAB International, 1994: 117-134.
- Hilde D., Vangroenweghe F., and Burvenich C., (2002).** “Potential Mechanism of Action of J5 Vaccine in Protection against Severe Bovine Coliform Mastitis.” *Veterinary Research* 33, no. 1, February 2002: 1–12.
- Hinthong,W., NatapolPumipuntu, N., Santajit,S., Kulpeanprasit,S. ,Buranasinsup,S., Sookrung,N., Chaicumpa,W, Aiumurai,P.and Indrawattana,N.,Hinthong et al. (2017).**Detection and drug resistance profile of Escherichia coli from subclinical mastitis cows and water supply in dairy farms in Saraburi Province, Thailand. *PeerJ* 5:e3431; DOI 10.7717/peerj.
- Hoeben D., C. Burvenich E. Trevisi, G. Bertoni, J. Hamann, R. M. Bruckmaier, and J. W. Blum.,(2000).** “Role of Endotoxin and TNF-Alpha in the Pathogenesis of Experimentally Induced Coliform Mastitis in Periparturient Cows.” *The Journal of Dairy Research* 67, no. 4, November 2000: 503–14.
- Hogan, Joe, and K. Larry Smith.,(2003).** “Coliform Mastitis.” *Veterinary Research* 34, no. 5, 507–19.
- 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

Références Bibliographique

Escherichia coli lipopolysaccharide endotoxin. *Data in brief*, 21, 684-699. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352340918311818>.

I

Ibekwe M.A., Murinda S.E., Graves A.K.,(2011). Genetic diversity and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from human and animal sources uncovers multiple resistances from human sources. *PLoSOne*;6(6): e20819.

Idriss S. E., V. Foltys V. Tancin K. Kirchnerova D. Tancinova andK. Zaujec., (2014). Mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Nitra, Slovakia. *Slovak J. Anim. Sci.* 47:33–38.

Ismail H., Tekinerand H.Öz.,(2016).Occurrence and characteristics of extended spectrum beta-lactamases-producing Enterobacteriaceae from foods of animal origin. *Brazilian journal of microbiology* 47444–451.

Islam M., Takagi M., Fukuyama K., Komatsu R., Albarracin L., Nochi, T., et Villena, J.(2020). Transcriptome Analysis of the inflammatory responses of bovine mammary epithelial cells: Exploring immunomodulatory Target genes for bovine mastitis. *Pathogens*, 9(3), 200. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2076-0817/9/3/200>.

Iwu C.J., Jaja I.F., Iweriebor B.C., Obi L.C., Okoh A.I. (2017).Antibiotic resistance profiles of *Escherichia coli* O26, O145, and O157:H7 isolated from swine in the Eastern Cape Province, South Africa/ journal homepage: <http://www.apjtcem.com> / *South AfricaAsian Pacific Journal of Tropical Disease/ Asian Pac J Trop Dis* 2017; 7(9): 553-559

J

Jacoby, G.A.(2009).AmpC beta-lactamases. *ClinMicrobiolRev* ;22(1): 161-82.

Jarlier V., Nicolas MH., Fournier G., Phillipon A.(1988).Extended broad-spectrum b-lactamases conferring transferable resistance to newer b-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence | and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*,10: 867-878.

Jacoby, G.A., and Munoz-Price, L.S., 2005. The new β -lactamases. *N Engl J Med.* 352: 380-391.

Johnson, J.R., Russo, T.A., (2002). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: “the other bad *E coli*”. *J. Lab. Clin. Med.* 139, 155–162.

Références Bibliographique

K

Kadja, M.C.(2010). Étude des mammites subcliniques dans les élevages bovins laitiers en Afrique de l'Ouest : Cas du Sénégal et du Bénin. Thèse de doctorat Université ABOMEY-CALAVI, Cotonou, 156 p.

Kaipainen, T., T. Pohjanvirta, N. Y. Shpigel, A. Shwimmer, S. Pyorala, and S. Pelkonen. (2002). Virulence factors of *Escherichia coli* isolated from bovine clinical mastitis. *Vet. Microbiol.* 85:37–46.

Kalandi M., Sow A.,Millogo V., Faye1 S., Ouédraogo A.G.,Sawadogo G.J.(2017).Prévalence et facteurs de risque des mammites subcliniques dans les élevages traditionnels de Kaolack au Sénégal *Journal of Applied Biosciences* 112: 10978-10984 ISSN 1997-5902.

Kaper JB., Nataro JP., Mobley HL., 2004: Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2, 123-140.

Keane O. M., (2016). Genetic diversity, the virulence gene profile and antimicrobial resistance of clinical mastitis-associated *Escherichia coli*. *Research in Microbiology*, 167(8), 678-684. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923250816300742>.

Khoshbakht R.,Shahed A, Aski H.S., (2014).Characterization of extended spectrum B-lactamase-producing *Escherichiae coli* strains isolated from dairy products .*J MicrobiolBiotechnol Food Sci* ;3:333–336.

Knothe H., P. Shah V. Krcmery M. Antal and Mitsuhashi S. (1983). Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *J Infect.* 11:315-317.

Konté M., (2003). Étude de la prévalence des mammites chez les bovins métis et locaux des systèmes de production semi-intensifs de Kaolack et de Fatick (44-46) In : Actes de l'atelier de restitution des résultats du projet PROCORDEL au Sénégal tenu le 22 décembre 2003 au CESAG, Dakar.

Kumar A., Schweizer H. P., (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 57:1486-1513.

L

Labbé j.f, (2003). Abord d'un élevage confronté à des mammites.le point vét/num232 vol 34 36-38.

Références Bibliographique

- Lacasse P., Sorry Diara M., Talbot B., Brouillette E., Petit cleric D, (2001)** « Nouvelles approches pour combattre la mammite » symposium sur les bovins laitiers CRAAQ Québec.
- Lalzampaia, H., Dutta, T.K., Warjri, I., Chandra, R. (2014).**Detection of extended-spectrum β -lactamases (*bla*CTX-M-1 and *bla*TEM) in *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., and *Klebsiellapneumoniae*isolated from poultry in North Eastern India. *Veterinary World*, 7(11): 1026-1031.
- Lam, T. J., L. J. Lipman, Y. H. Schukken, W. Gaastra, and A. Brand.,(1996).** “Epidemiological Characteristics of Bovine Clinical Mastitis Caused by *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia coli* Studied by DNA Fingerprinting.” *American Journal of Veterinary Research* 57, no. 1, January 1996: 39–42.
- Lavigne JP., (2007).** Effets des antibiotiques et Mécanismes de résistances, Facultés de Médecine Montpellier, p: 1-3.
- Leelahapongsathon, K., Piroon, T., Chaisri, W., and Suriyasathaporn, W.,(2016).** Factors in dry period associated with intramammary infection and subsequent clinical mastitis in early postpartum cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(4), 580. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4782094/>.
- Leena S., Pohjanvirta T., Simojoki H., Myllyniemi A.L., Pitkälä A., Pelkonen S., and Pyörälä S.,(2011).** “Phylogeny, Virulence Factors and Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated in Clinical Bovine Mastitis.” *Veterinary Microbiology* 147, no. 3–4, January 27, 2011: 383–88.
- Le Page P, Bosquet G, Théron L, Labbé J-F, Frédérici-Mathieu C, Tisserand S, et al.,(2014).** Traitement et prévention des mammites bovines : actualités. Supplément technique, *Dépêche Vétérinaire*, 136, 39 p.
- Levine MM., (1987).** *Escherichia coli* that cause diarrhea. Enterotoxigenic, Enteropathogenic, Enteroinvasive, Enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J Inf Dis.* 155, 377-380.
- Lira W.M.,Macedo C.and Marin J.M., (2004).** The incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in cattle with mastitis in Brazil, *Journal of Applied Microbiology*, 97, 861–866.
- Livermore DM., (2003).** “Bacterial Resistance: Origins, Epidemiology, and Impact,” An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 36(1): 11–23.

Références Bibliographique

Livermore D.M., Canton R., Gniadkowski M., Nordmann P., Rossolini G.M., Arlet, G., Poirel, L., and Woodford, N., (2007). CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 59(2): 165-174.

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* Volume 16, Number 8, 2019 Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/fpd.2598.

Longo F., Beguin J.C., Consalvi P.J., Deltour J.C. (1994). Quelques données épidémiologiques sur les mammites Subcliniques de la vache laitière. *Rev. Med. Vet.*, 145 (1) : 43-47.

Luquet FM., (1985). Laites et produits laitiers ; vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les lait De la mamelle a la laiterie. Societe Scientifique d'hygiène Alimentaire. Edition : Technologie et documentation- Lavoisier. Paris, 139p.

M

Machado J., Grimont F., Grimont PAD., 1998: Computer identification of *Escherichia coli* rRNA gene restriction patterns, *Res. Microbiol.* **149**, 119-135.

Magnusson M., Christiansson et Svensson B. (2007). *Bacillus cereus* spores during housing of dairy cows: factor affecting contamination of raw milk. *Journal of dairy science.* N° 90. pp: 2745-2754.

Mainil JG., Gerardin J., Jacquemin E., (2000). Identification of the F17 fimbrial subunit- and adhesin encoding (f17A and f17G) gene variants in necrotoxicogenic *Escherichia coli* from cattle, pigs and humans. *Vet. Microbiol.* **73**, 327-335.

Mainil JG., Jacquemin E., Herault F., Oswald E., (1997). Presence of pap-, sfa-, and afa-related sequences in necrotoxicogenic *Escherichia coli* isolates from cattle: evidence for new variants of the AFA family. *Can. J. Vet. Res.* **61**, 193-199.

Makovec J.A. and Ruegg P. (2003). Antimicrobial resistance of bacteria isolated from dairy cow milk samples submitted for bacterial culture: 8905 samples (1994-2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 222:1582-1589.

Maluta, R.P., Fairbrother, J.M., Stella, A.E., Rigobelo, E.C., Martinez, R., de Avila, F.A., (2014). Potentially pathogenic *Escherichia coli* in healthy, pasture-raised sheep on farms and at the abattoir in Brazil. *Vet. Microbiol.* 169, 89–95.

Références Bibliographique

- Manner, Y.(2001).** “Méthodes de bactériologie des mammites cliniques, bibliographie, étude expérimentale d’un test bactériologique rapide.” Thèse vétérinaire, Université de Nantes, France. 89p.
- Marchal, N., Bourdon, J. L., & Richard, C. (1982).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Retrieved from Google scholar.
- Mathieu J., 1998.** Ecole nationale des industries du lait et des viandes de la Roche-Sur-Foron. Initiation à la physico-chimie du lait. Ed. Tec & Doc : Lavoisier, Paris. pp : 12-210.
- McCarron, J. L., G. P. Keefe, S. L. B. McKenna, I. R. Dohoo, and D. E. Poole.** “Laboratory Evaluation of 3M Petrifilms and University of Minnesota Bi-Plates as Potential onFarm Tests for Clinical Mastitis.” *Journal of Dairy Science* 92, no. 5, May 2009: 2297–2305
- Meredith, H.R., (2015).** Dynamics and intervention. *Nature Chemical Biology*. 11: 182- 189.
- Mesaros, N.F. Van. Bambeke, L. Avrain, Y. Glupczynski, R. Vanhoof, P. Plesiat, et al. (2005).** L'efflux actif des antibiotiques et la resistance bacterienne: etat de la question et implications. *La lettre de l'infectiologue-Tome XX-no 4:117-126.*
- Messadi L., Chemly J., Ben Salem F., Ouali F., Mallek F., Chebil S. (2002).** Mammites cliniques de la vache : principaux germes isolés et antibiorésistance. In *Proceedings Colloque : Lait ‘‘ Qualité et Santé ’’*, Hammam Sousse 11-13 novembre 1999. Edit. El Baytari: 39-41.
- Messaï Chafik Rédha. (2016).** Etude bactériologique et moléculaire des souches *Escherichia coli* aviaires responsables de colibacillose chez le poulet et dinde de chair. Thèse de doctorat Es-science à l’école nationale vétérinaire.
- Micali, G., Grilli, J., Osella, M., and Lagomarsino, M., C. (2018).** Concurrent processes set *E. coli* cell division. *Science Advances*, 4(11), eaau3324. Retrieved from <https://advances.sciencemag.org/content/advances/4/11/eaau3324.full.pdf>.
- Miller, R.H., Emanuelsson .U. Persson, E., Brolund,L., Philipsson,J., Funke H., (1983).** Relationships of milk somatic cell counts to daily milk yield and composition. *Acta Agric. Scand.*, 33,209-223.
- Mitchell S.M.,Subbiah M, U.,llman J.L.,Frear C., Call D.R., (2015).** Evaluation of 27 different biochars for potentials equestration of antibiotic residues in food animal production environments .*JEnvironChemEng*; 3:162–169.
- Mocquot, G et Guittonneau, G. (1939).** Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation sur la colimétrie appliquée aux contrôles de la pasteurisation des laits et des laits pasteurisés. *Le Lait*, 19, 113-139.

Références Bibliographique

Mogenet L., Fedida D., (2004). Rational antibiotherapy in poultry against atypical Mycobacteria. *J Infect Dis*,123 (2), 216-219.

Morin, D.E.(2009). “Mammary gland health and disorders”, in: Smith B.P., Large animal internal medicine 4th ed., St Louis, Mo: Mosby Elsevier. Chapter 36, 2009: 1112- 1143

Moulin M., Coquerel A., (2002). Pharmacologie Connaissance et Pratiques. 2^{ème} édition. Edition Masson. Paris, pages 845.

M’sadak Y., Mighri L. et Kraiem K., (2014). Etude des numérations cellulaires du lait et analyse descriptive des facteurs de risque des mammites en élevage bovin hors sol dans la région de Monastir (Tunisie). *Revue Nature & Technologie*, 10: 56-61.

Murinda, S. E., Ibekwe, A. M., Rodriguez, N. G., Quiroz, K. L., Mujica, A. P., & Osmon, K. (2019). Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* in mastitis: An international perspective. *Foodborne Pathogens and Disease*, 16(4), 229-243. Retrieved from https://www.ars.usda.gov/arsuserfiles/20361500/pdf_pubs/P2623.pdf.

N

Naiemi, N.A., Duim, B., Savelkoul, P.H., Spanjaard, L., De Jonge, E., Bart, A., Vandenbroucke-Grauls, C.M., and de Jong, M.D., (2005). Widespread transfer of resistance genes between bacterial species in an intensive care unit: implications for hospital epidemiology. *J Clin Microbiol.* 43(9): 4862-4864.

Nam, H.M., Lim, S.K., Kang, H.M., Kim, J.M., Moon, J.S., Jang, K.C., Kim, J.M., Joo Y.S., Jung, S.C.(2009). Prevalence and antimicrobial susceptibility of gram-negative bacteria isolated from bovine mastitis between 2003 and 2008 in Korea. *J Dairy Sci*;92:2020–2026

Nataro JP., Kaper JB., (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev.* 11, 142-201.

Nauciel C., Vildé JL., (2008). Bactériologie médicale. 2^{ème} éditions. Editions Masson. Page 257.

Nazik, H., Bektore, B., Ongen, B., et al.(2011). Plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Escherichia coli* urinary isolates from two teaching hospitals in Turkey: coexistence of TEM, SHV, CTX-M and VEB-1 Type β -lactamases. *Trop J Pharm Res.* 2011; 10:325–333.

Neal M., (2007) : Pharmacologie médicale. 3^{ème} éditions. De Boeck. Paris, pages 80-85.

Nemeth J., Muckle C.A., Gyles C.L.,(1994). In vitro comparison of bovine mastitis and fecal *Escherichia coli* isolates, *Veterinary Microbiology*, Volume 40, Issues 3–4, 1994, Pages 231-238, ISSN 0378-1135, [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(94\)90112-0](https://doi.org/10.1016/0378-1135(94)90112-0).

Références Bibliographique

Nobili G., Franconieri I., Basanisi M.G., La Bella G., Tozzoli R., Caprioli A., La Salandra G., (2016). Short communication: Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in raw milk and mozzarella cheese in southern Italy. *Journal of Dairy Science* 99(10):7877-7880.

Nordmann, P., L. Dortet, and L. Poirel. (2012). Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! *Trends Mol. Med.* **18**: 263-272.

Nüesch-Inderbinen, M, Käppeli, N, Morach, M, et al. (2019). Molecular types, virulence profiles and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* causing bovine mastitis. *Veterinary Record Open* 2019;6:e000369. doi:10.1136/vetreco-000369.

O

Oktivia, C.M., Komang, J., Putra, P. and Wayan, S. (2015). Antibiotic Resistance Profiles of *Escherichia coli* O157:H7 in Cattle at South-Kuta, Badung Regency, Bali, Indonesia/ *Global Veterinaria* 15 (5): 480-484, 2015/ISSN 1992-6197/ 3Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Udayana University, Jl. PB. Sudirman Denpasar-Denpasar, Bali-80232, Tlp. (0361) 223791, 701808, Indonesia.

Olivares-Pérez, J., Kholif, A.E., Rojas-Hernández, S. et al.(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. *Trop Anim Health Prod* 47, 1497–1504. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0890-8>

Olson, A.B., Silverman, M., Boyd, D.A., McGeer, A., Willey, B.M., Pong-Porter, V.,

Daneman, N., and Mulvey, M.R., (2005). Identification of a progenitor of the CTX-M-9 group of extended-spectrum beta-lactamases from *Kluyvera Georgiana* isolated in Guyana. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49(5): 2112-2115.

OMS.,(2008). Manuel de standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 4ème édition ; 100 pages.

Ombarak,R., Hinenoya,A., Abdel-Rahman, M.,Elbagory, 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*, Vol. 81, No. 2, Pages 226–232 doi:10.4315/0362-028X.JFP-17-277 Copyright __, International Association for Food Protection.

Références Bibliographique

O’neill J., (2016). Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations.

Orskov F., Genus I., (1986). *Escherichia Castellani and Chalmers, 1919, 941 AL.* In: N. R. Krieg and J. G Hold (eds). *Bergey’s manual of systematic bacteriology. Vol 1, The Williams and Wilkins Co, Baltimore*

Orskov F., Orskov I., (1992). *Escherichia coli* serotyping and disease in man and animals. *Can J Microbiol*, **38**: 699-704.

Osterberg J, Wingstrand A, Jensen AN, Kerouanton A, Cibin V, Barco L, et al. (2016). Antibiotic resistance in *Escherichia coli* from pigs in organic and conventional farming in four european countries. *PLoSOne* ;**11**(6) : e0157049.

Overdevest I., Willemsen I., Rijnsburger M., (2011). Extended-spectrum beta-lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, The Netherlands. *Emerg Infect Dis* ; **17**:1216 –1222.

P

Page C., Curtis M., Sutter M., Hoffman B., (1999). Traduction de la 1ère édition anglaise par Cheymol G. *Pharmacologie intégrée, De Boeck. Paris. p : 419-460.*

Pang J., Liu, Z. Y., Hao M., Zhang Y. F., and Qi Q. S., (2017). An isolated cellulolytic *Escherichia coli* from bovine rumen produces ethanol and hydrogen from corn straw. *Biotechnology for biofuels*, **10**(1), 1-10. Retrieved from <https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-017-0852-7>.

Pankey, J. W., (1989). “Hygiene at Milking Time in the Prevention of Bovine Mastitis.” *British Veterinary Journal* **145**, no. 5, September 1, 1989: 401–9.

Pantel A., (2015). Multirésistance des entérobactéries aux antibiotiques et modulation de l’influx et de l’efflux membranaires chez *Escherichia coli* ST131 (Doctoral dissertation). Retrieved from <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01346531/document>.

Paterson, D.L., and Bonomo, R.A., (2005). Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* **18**: 657-686.

Paterson, D.L., Bonomo, R.A. (2005). Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*, **18**:657-86.

Perez F., Endimiani A., Hujer K.M., Bonomo R.A., (2007). The continuing challenge of ESBLs. *Curr. Opin. Pharmacol.*, **7**(5): 459-469.

Références Bibliographique

- Petersen F., and Hubbart J. A., (2020).** Physical factors impacting the survival and occurrence of *Escherichia coli* in secondary habitats. *Water*, 12(6), 1796. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2073-4441/12/6/1796>.
- Philippon A., and Arlet G., (2006).** β -Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! *Ann Biol Clin.* 64(1): 37-51.
- Pittsburgh P., (2003).** What Is an Antibiotic Revisited. *Advances In Applied Microbiology.* 52:303-331.
- Pluvinage P.H., Ducruet T.H., Josse J., Monicat F., (1991).** Facteurs de risque des mammites des vaches laitières. Résultats d'enquête. *Rec. Med. Vet.*, 167, (2) : 105-112.
- Poirel L., Kampfer P., and Nordmann P., (2002).** Chromosome-encoded Ambler A betalactamase of *Kluyvera georgiana*, a probable progenitor of CTX-M extended-spectrum betalactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 4038-4040.
- Poutrel B.,(1983).** “La Sensibilité Aux Mammites: Revue Des Facteurs Liés À La Vache.” *Ann. Rech. Vét* 14, 89–104.
- Poutrel. B., Vermesse. R, Verneau. D., (1999).** Utilisation du CMT pour le diagnostic des infections mammaire. Maitrise des statuts infectieux de la qualité cellulaire du lait de chèvre par l'utilisation du post-trempe : résultats expérimentaux et données de terrain. Journées National des GTV. INRA session; antibiothérapie 527-528.
- Poutrel B., Stegeman MR., Roy O., Pothier F., Tilt N., Payne-Johnson M.,(2008).** “Evaluation of the efficacy of systemic danofloxacin in the treatment of induced acute *E. coli* bovine mastitis.” *J. Dairy Res.*75, 2008:310-318.
- 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. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Bernard_Poutrel/publication/325315821_Prevalence_of_Mastitis_Pathogens_in_France_Antimicrobial_Susceptibility_of_Staphylococcus_aureus_Streptococcus_uberis_and_Escherichia_coli/links/5b1264834585150a0a61015c/Prevalence-ofMastitis-Pathogens-in-France-Antimicrobial-Susceptibility-of-Staphylococcus-aureus-Streptococcus-uberis-and-Escherichia-coli.pdf.
- Poyart C., (2002).** Résistance des bactéries aux antibiotiques. *Bactériologie générale* PCEM2.Faculté de médecine Necker Enfants malades, p.72-77.

Références Bibliographique

Poyart C., (2003). Bactériologie générale. P.C.E.M. 2. Faculté de médecine ; Necker-Enfants malades, 50 – 77 ; 375-431.

Q

Quintiliani R.J.R., Courvalin P., (1995). Mechanisms of resistance to antimicrobial agent. In “Manual of clinical microbiology” Edited by Murray et al., 6th Edition, American Society of Microbiology, Press, pp. 1308-1326.

R

Rahal K. 1999 : standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS, I.N.S.P Algérie.

Rahimi M.(2013). Antibioresistance Profile of Avian pathogenic *Escherichia coli* Isolates Recovered from Broiler Chicken Farms with Colibacillosis in Kermanshah Province, Iran *Global Veterinaria* 10 (4): 447-452.

Rainard P., (2003). “Mobilization of Neutrophils and Defense of the Bovine Mammary Gland.” *Reproduction Nutrition Development* 43, no. 5, September 1, 2003: 439–57.

Rainard P., Foucras G., Boichard D., Rupp R. (2018). Faibles concentrations cellulaires du lait et sensibilité aux mammites des ruminants laitiers. *INRA Productions Animales*, Paris: INRA, 2018, 31 (4), pp.365-376. [10.20870/productions-animales.2018.31.4.2393](https://doi.org/10.20870/productions-animales.2018.31.4.2393). [hal-02621013](https://hal.inrae.fr/hal-02621013).

Rakotozandrindrainy R., Razafindrajaona J.M. et Foucras G., (2007). Diagnostic rapide à la ferme des mammites subcliniques des vaches laitières du triangle laitier des hautes terres de Madagascar. *Revue Méd. Vét.*, 2007, 158, 02, 100-105.

Rangel P. and Marin J.M. (2009). Analysis of *Escherichia coli* isolated from bovine mastitic milk *Pesq. Vet. Bras.* 29(5):363-368.

Rémond B., (1987). Influence du stade de lactation et de l'âge sur la composition chimique du lait. In effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques (aptitude à la coagulation, lipolyse). *INRA prod, Anim.*, 4(3), 219-228.

Rémy D.,(2010). “Les mammites.” France Agricole Éditions, Paris, France., 2010. 262 p.

Rodriguez-Villalobos H., and Struelens, M.J., (2006). Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu: implications pour le réanimateur. *Rev Réanimation* 15. (3): 205–213.

Références Bibliographique

Romain H.T., Adesiyun A.A., Webb L.A., Lauckner F.B., (2000). Study on risk factors and their associations with subclinical mastitis in lactating dairy cows in Trinidad. *J. Vet. Med. B*, 47: 257-271.

Roussel P., Porcherie A, Cunha P., Ferter-Repérant M., Gilbert F.,(2012). Diversité des réponses immunitaires de la glande mammaire lors de mammites induites par différentes souches d' *Escherichia coli*. 6. *Journées des microbiologistes de l'INRA*, L'Isle-sur-la-Sorgue, France. 206 p. [hal-02749087](#).

Roussel P., Porcherie A., ReÂpeÂrant-Ferter M., Cunha P., Gitton C., Rainard P., et al. (2017). *Escherichia coli* mastitis strains: *In vitro* phenotypes and severity of infection *in vivo*. PLoS ONE 12(7): e0178285. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178285>.

Roux Y, 1999. Les mammites de la vache laitière. File://A:\mammite. htm. 10 p.

Rupp R., Boichard D., (2001). “Numérations cellulaires du lait et mammites cliniques : relations phénotypiques et génétiques chez les vaches Prim'Holstein.” INRA Productions Animales 14, 2001, 193-200.

S

Saberfar E., Pourakbari B., Chabokdavan K., Taj Dolatshahi F. (2008).Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from Iranian broiler chicken flocks, 2005–2006. *J Appl Poult Res*. 17,302–304.

Sahu D., Mandal D. K., Hussain Dar A., Podder M., and Gupta, A.,(2019). Modification in housing system affects the behavior and welfare of dairy Jersey crossbred cows in different seasons. *Biological Rhythm Research*, 1-10. Retrieved from <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09291016.2019.1619130>.

Saidani M., Messadi L.,Soudani A., Daaloul-Jedidi M., Cha^ tre P., BenChehida F.,Mamlouk A.,Mahjoub W., Madec J.Y. and Haenni M. (2018). Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Clinical Bovine Mastitis in Tunisia.veterinary microbiology DOI: 10.1089/mdr.0049.

Saini,V., McClure,J.T, Le´gerD., Keefe, G.P, Scholl, D.T, Morck,D.W, Barkema,H.W. (2012).Antimicrobial resistance profiles of common mastitis pathogens on Canadian dairy farms. *J Dairy Sci*; 95:4319–4332.

Références Bibliographique

- Saxena R.K., Dutta G.N., Borah R., Duragohain J., (1993).**Incidence and etiology of bovine subclinical mastitis. *Indian Vet. J.*, 70: 1079-1080.
- Schalm O.W., Noorlander D.O., (1957).**Experiments and observations leading to the development of the California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 130: 199.
- Schmitt-Van de Leemput E., Samson O., Gaudout N., Alliot M., (2013).** Recours à la PCR multiplex en clientèle et comparaison à la culture bactérienne sur le lait Le Point Vétérinaire expert rural n° 334 <https://www.lepointveterinaire.fr/publications>.
- Schmitt-van de Leemput E., Bogoni G., Genest M., Rodier S., (2018).** L'analyse PCR du lait de tank : un outil pour le suivi bactériologique du lait Le Point Vétérinaire expert rural n° 390 <https://www.lepointveterinaire.fr/publications>.
- Schultz M.M., Hansen L.B., Steuernagel G.R. Kuck A.L., (1990).** Variation of milk , fat , protein and somatic cells for dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 73, 484-493.
- Schwaber, M.J, and Carmeli, Y., (2007).** Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 60: 913-920.
- Schwan WR., Lee JL., Lenard FA., Matthews BT., Beck MT., (2002).** Osmolarity and pH growth conditions regulate fim gene transcription and type 1 pilus expression in Uropathogenic Escherichia coli. *Infect Immun*, 70, 1391-1402.
- Sedrati T., Menoueri M.N., Tennah S., E. P Ngaiganam E.P., Azzi O., Chadi H., Zerrouki H., Rolain J.M., Diene, S.(2020).** Molecular characterization of multidrug resistant Escherichia coli isolated from milk of dairy cows with clinical mastitis in Algeria *J Food Prot.*<https://doi.org/10.4315/JFP-20-198>.
- Serieys F., (1985).** Conditions de logement et infections mammaires. *Rec. Médecine Vétérinaire*.161 (67) : 519-528.
- Sérieys F., Auclair J., Poutrel B., (1987).** Influence des infections mammaires sur la composition chimique du lait. In : CEPIL. Le lait matière première de l'industrie laitière. CEPIL-INRA, Paris, 161-170.
- Sérieys F., (1989).** Les mammites des vaches laitières, collection : le point sur ITEB, 149rue de bercy, paris.
- Sidhu M.S, Sørum H, Holck A.(2002).**Resistance to quaternary ammonium compounds in food-related bacteria. *Microb Drug Resist*; 8 (4): 393-99.

Références Bibliographique

Sköld O., (2001): Résistance to trimethoprim and sulphonamides. *Vet Res*, **32** (3-4), 261-273.

Skold, O. (2006). Antibiotics and antibiotic resistance. John Wiley and Sons.

Smith, K. Larry, D. A. Todhunter, and P. S. Schoenberger. “Environmental Mastitis: Cause, Prevalence, Prevention.” *Journal of Dairy Science* 68, no. 6, June 1, 1985: 1531–53.

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.

Su C., Brandt L.J., (1985). *Escherichia coli* O157: H7 infection in humans. *Ann Int Med*, **123**, 698-714.

Su, Y., Yu, C. Y., Tsai, Y., Wang S. H., Lee, C., Chu, C. (2014). Fluoroquinolone-resistant and extended-spectrum-lactamase producing *Escherichia coli* from the milk of cows with clinical mastitis in Southern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2014.10.003>.

Supre, K., Lommelen, K. and De Meulemeester, L. (2014). Antimicrobial susceptibility and distribution of inhibition zone diameters of bovine mastitis pathogens in Flanders, Belgium. *Vet. Microbiol.* 171:374–381. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.045>.

Suriyasathaporn, W., C. Heuer, E. N. Noordhuizen-Stassen, and Y. H. Schukken., (2000). “Hyperketonemia and the Impairment of Udder Defense: A Review.” *Veterinary Research* 31, no. 4, August 2000: 397–412.

T

Tadesse D.A., Zhao S., Tong E., Ayers, S., Singh A., Bartholomew M.J., et al. (2012). Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. *Emerg Infect Dis* 2012; **18**(5): 741-9.

Tadesse H.A., Gidey N.B., Workelule, K., Hailu, H., Gidey, S., Bsrat, A., Taddele, H. (2018). Antimicrobial Resistance Profile of *E. coli* Isolated from Raw Cow Milk and Fresh Fruit Juice in Mekelle, Tigray, Ethiopia. *Veterinary Medicine International*. <https://doi.org/10.1155/2018/8903142>.

Tankovic J., Duval J., (2007). Mécanismes d’action des antibiotiques in Médecine thérapeutique, Vol 3, hors série, p : 37-69.

Taylor V., (2006). Indices de mammite: facteurs combinés justifiant une intervention. L’avance de programme d’assurance de qualité de lait/MAAARO.

Références Bibliographique

Tenaillon O., Skurnik D., Picard, B. et al., (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* **8**, 207–217. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2298>.

Thariath A., Socha D., Valvano MA., Viswanatha T., (1993). Contribution and biochemical characterization of recombinant cytoplasmic forms of the IucD protein (lysine:N6-hydroxylase) encoded by the pColV-K30 aerobactin gene cluster ; *Jornal of Bacteriology* Vol. 175, No. 3 DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.175.3.589-596.1993>.

Thomas V., de Jong A., Moyaert H., Simjee S., El Garch F., Morrissey I., Marion H. and Valle M., (2015). Antimicrobial susceptibility monitoring of mastitis pathogens isolated from acute cases of clinical mastitis in dairy cows across Europe: VetPath results. *Int. J. Antimicrob. Agents* 46:13–20. <https://doi.org/10.1016/j.jantimicag.2015.03.013>.

Traoré A., Tamboura H. H., Bayala B., Rouamba D. W., Yaméogo N., Sanou M. (2004). Prévalence globale des pathologies majeures liées à la production laitière bovine en système d'élevage intra-urbain à Hamdallaye (Ouagadougou). *BASE*. Retrieved from <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=17384&file=1&pid=13942>.

Tuteja F.F., Kapur M.P., Sharma A., Vinajaka A.K., (1993). Studies on bovine subclinical mastitis : Prevalence and microflora. *Indian Vet. J.*, 70, 787-791.

V

Vangroenweghe F., L. Duchateau L., Burvenich C., (2004). “Moderate Inflammatory Reaction during Experimental *Escherichia coli* Mastitis in Primiparous Cows.” *Journal of Dairy Science* 87, no. 4, April 2004: 886–95.

Vangroenweghe F, Duchateau L, Boutet P, Lekeux P, Rainard P, Paape Mj, et al., (2005). Effect of carprofen treatment following experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in primiparous cows. *Journal of Dairy Science*. 2005, 88, 2361-2376.

Veilleux S., Dubreuil J.D., (2006). Presence of *Escherichia coli* carrying the EAST1 toxin gene in farm animals *Vet. Res.* 37 (2006) 3-13 DOI : <https://doi.org/10.1051/vetres:2005045>

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 <http://dx.doi.org/10.3168/jds-8173> American Dairy Science Association, 2014 .

Références Bibliographique

Vignola C., (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp : 3-75.

Villate D., (1997). Maladies des volailles, Manuelle pratique, Edition France agricole, Paris, France.

W

Wallace, J.A.,(2007). Diagnostiquer la mammite.” Le producteur de lait québécois, 47-49.

Wallace J.A., Émile B., Luc DC., Serge M., Denis DT., Jean-Philippe

R.,(2011).Comparison of Results for Commercially Available Microbiological Media Plates with Results for Standard Bacteriologic Testing of Bovine Milk.” American Journal of Veterinary Research 72, no. 12.

Wattiaux. M.A., (1999). Reproduction et sélection génétique chapitre 12 : évaluation de la condition corporelle ». Institut Babcock pour la recherche et le développement international de secteur laitier. University Wisconsin Madison.

Wenz J.R., Barrington G.M., Garry F.B., Ellis R.P., Magnuson R.J., (2006). Escherichia coli isolates' serotypes, genotypes and virulence genes and clinical coliform mastitis severity. J. Dairy Sci. 89, 3408–3412.

Wolter R., (1994). Alimentation de la vache laitière. Editions France Agricole , 2eme edition, 255p.

Y

Yalla D., Merad AS., Mohamdi D., Ouarkorich MN., (2001). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb. **91**, 1-11.

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. Retrieved from https://peerj.com/articles/5711/?utm_source=TrendMD&utm_campaign=PeerJ TrendMD 0 &utm_medium=TrendMD.

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.

Références Bibliographique

Z

Zadoks R.N., Middleton J.R., McDougall S., Katholm J., Schukken Y.H., (2011). Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 16, 357–372.

Zhang W., Bielaszewska M., Bockemühl J., Schmidt H., Scheutz F., Karch H., (2000). Molecular analysis of H antigens reveals that human diarrheagenic *Escherichia coli* O26 strains that carry the "eae" gene belong to the H11 clonal complex. *J Clin Microbiol*, **8**: 2989-2993.

Zhang D., Zhang Z., Huang C., Gao, X., Wang Z., Liu Y., Tian C. (2017). The phylogenetic group, antimicrobial susceptibility, and virulence genes of *Escherichia coli* from clinical bovine mastitis, *J. Dairy Sci.* 101 (2018) 1–9, <https://doi.org/10.3168/jds.201713159>

Zinegesser J., Daye Y., Lopez V., Grant G., Bryan L., Kearney M., Hugh-Jones M.E. (1991). National survey of clinical and subclinical mastitis in Jamaican dairy herds, 1985-86. *Trop. Anim. Health Prod.*, **23**, 2-10.

Resumé :

La mammite chez les vaches est un problème majeur dans les exploitations laitières, entraînant une diminution de la quantité et de la qualité du lait. L'objectif de la présente étude était d'examiner l'association entre la présence d'*Escherichia coli* (*E. coli*) dans le lait et la mastite subclinique, et de caractériser les profils de résistance aux antibiotiques des *E. coli* isolés. Dans la présente étude, un total de 360 échantillons de lait cru de vache provenant de trois fermes laitières de la région d'Alger ont été analysés. La période d'analyse a duré du printemps 2017 à l'hiver 2019. Le test de mammite californien (CMT) a été appliqué pour détecter la mammite subclinique. Les souches d'*E. coli* ont été isolées du lait par des méthodes bactériologiques classiques. Le profil de résistance aux antibiotiques des souches d'*E. coli* isolées à 12 antibiotiques différents a été testé par la méthode de diffusion sur disque. Sur les souches productrices de β -lactamase, un test de double diffusion a été appliqué pour identifier le phénotype β -lactamase à spectre étendu (ESBL). Enfin, les gènes *ctXx-M* ont été amplifiés par PCR. Deux tiers (66,4 %) des échantillons de lait étaient positifs pour le test CMT. Au total, 97 souches d'*E. coli* ont été isolées des échantillons de lait, leur résistance aux antibiotiques a été testée et 3,1 % des souches étaient résistantes au triméthoprim-sulfaméthoxazole, 6,2 % au chloramphénicol, 12,3 % à la gentamicine, 13,4 % à la colistine, 23,3 % à l'amoxicilline/clavulanate, 31,9 % à la kanamycine, 39,2 % à l'enrofloxacin, 51,5 % au céfotaxime, 52 % à la tétracycline, 57,7 % à l'ampicilline, 74,3 % à l'acide nalidixique et 75,3 % à l'amoxicilline. En outre, la plupart des souches d'*E. coli* (92,8 %) étaient résistantes à plus d'un antibiotique, avec un indice de résistance multiple aux antibiotiques allant de 0 à 0,8. Les 50 souches résistantes au céfotaxime ont été analysées pour détecter un phénotype BLSE. 39 d'entre elles (78 %) étaient positives au test de synergie à double disque. Parmi les 39 souches positives pour les BLSE, 27 (69,2%) ont été confirmées pour la présence d'un gène CTX-M par PCR. La présente étude a montré que les *E. coli* multirésistants, y compris les porteurs de BLSE, étaient fréquemment isolés du lait des vaches laitières en Algérie. Les résultats soulignent que l'utilisation des antibiotiques dans les fermes doit être raisonnée pour éviter la propagation de souches résistantes chez les animaux et les populations humaines.

Mots clés : Résistance aux antibiotiques, vaches, gène CTX-M, *Escherichia coli*, lait, mammite subclinique.

Abstract :

Mastitis in cows is a major problem in dairy farms leading to a decrease in the quantity and quality of milk. The aim of the present study was to examine the association between the presence of *Escherichia coli* (*E. coli*) in milk and the subclinical mastitis, and to characterize the antibiotic resistance profiles of the isolated *E. coli*. In the current study, a total of 360 cow raw milk samples from three dairy farms of the region of Algiers were analyzed. The analysis period lasted from Spring 2017 to Winter 2019. The California Mastitis Test (CMT) was applied to detect subclinical mastitis. The *E. coli* strains were isolated from milk using conventional bacteriological methods. The antibiotic resistance profile of the isolated *E. coli* strains to 12 different antibiotics was tested using the disk diffusion method. On β -lactamase-producing strains, a double diffusion test was applied to identify the Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) phenotype. Finally, the *ctXx-M* genes were amplified by PCR. Two-thirds (66.4%) of the milk samples were positive for the CMT test. A total of 97 *E. coli* strains were isolated from the milk samples, their resistance to antibiotics was tested, and 3.1% of the strains were resistant to trimethoprim-sulfamethoxazole, 6.2% to chloramphenicol, 12.3% to gentamicin, 13.4% to colistin, 23.3% to amoxicillin/clavulanate, 31.9% to kanamycin, 39.2% to enrofloxacin, 51.5% to cefotaxime, 52% to tetracycline, 57.7% to ampicillin, 74.3% to nalidixic acid, and 75.3% to amoxicillin. Furthermore, most of the *E. coli* strains (92.8%) were resistant to more than one antibiotic with a Multiple Antibiotic Resistance index ranging from 0 to 0.8. The 50 strains resistant to cefotaxime were analyzed for an ESBL phenotype. 39 of them (78%) were positive to the double-disk synergy test. Among the 39 ESBL positive strains, 27 (69.2%) were confirmed for the presence of a CTX-M gene by PCR. The present study showed that multiple drug-resistant *E. coli*, including ESBL-carriers, were frequently isolated from the milk of dairy cows in Algeria. The results underlined that the use of antibiotics on farms must be reasoned to avoid the spread of resistant strains in animals and human populations.

Keywords: Antibiotic Resistance, Cows, CTX-M gene, *Escherichia coli*, Milk, Subclinical Mastitis.

ملخص :

يعد التهاب الضرع في الأبقار مشكلة كبيرة في مزارع الألبان ، مما يؤدي إلى انخفاض كمية الحليب وجودته. كان الهدف من هذه الدراسة هو فحص العلاقة بين وجود الإشريكية القولونية (*E. coli*) في اللبن والتهاب الضرع تحت الإكلينيكي ، وتوصيف سمات مقاومة المضادات الحيوية للإشريكية القولونية المعزولة. في هذه الدراسة ، تم تحليل إجمالي 360 عينة من حليب البقر الخام من ثلاث مزارع ألبان في منطقة الجزائر العاصمة. استمرت فترة التحليل من ربيع 2017 إلى شتاء 2019. تم تطبيق اختبار كاليفورنيا لالتهاب الضرع (CMT) للكشف عن التهاب الضرع تحت الإكلينيكي. سلالات *E. coli* من الحليب بالطرق البكتريولوجية التقليدية. إن المظهر الجانبي لمقاومة المضادات الحيوية لسلالات بكتيريا *E. coli* المعزولة إلى 12 مضاد حيوي مختلف بطريقة الانتشار القرصي. على السلالات المنتجة β -lactamase ، تم تطبيق اختبار انتشار مزدوج لتحديد النمط الظاهري (ESBL β -lactamase) ممتد الطيف.

أخيرًا ، تم تضخيم جينات *ctXx-M* بواسطة PCR. كان ثلثا عينات اللبن (66.4%) موجبة لاختبار CMT. ما مجموعه 97 سلالة من *E. coli* من عينات الحليب ، وتم اختبار مقاومتها للمضادات الحيوية و 3.1% من السلالات كانت مقاومة لميثوبريم-سلفاميثوكسازول ، 6.2% للكلورامفينيكول ، 12.3% للجنتاميسين ، 13.4% للكوليسيتين ، 23.3% أموكسيسيلين / كلافلانات ، 31.9% كاناميسين ، 39.2% إنروفلوكساسين ، 51.5% سيفوتاكسيم ، 52% تتراسيكلين ، 57.7% أمبيسيلين ، 74.3% حمض نالديكسيك و 75.3% أموكسيسيلين. بالإضافة إلى ذلك ، فإن معظم سلالات (*E. coli* 92.8) مقاومة لأكثر من مضاد حيوي ، بمؤشر مقاومة مضاد حيوي متعدد يتراوح من 0 إلى 0.8. تم تحليل 50 سلالة مقاومة للسيفوتاكسيم للكشف عن النمط الظاهري لـ 39 ESBL. منهم (78%) كانت إيجابية في اختبار تآزر القرص المزدوج. من 39 سلالة إيجابية لـ ESBL ، تم تأكيد 27 (69.2%) لوجود جين *CTX-M* بواسطة PCR. أظهرت الدراسة الحالية أن الإشريكية القولونية المقاومة للأدوية المتعددة ، بما في ذلك ناقلات ESBL ، تم عزلها بشكل متكرر من حليب الأبقار الحلوب في الجزائر. تؤكد النتائج أن استخدام المضادات الحيوية في المزارع يجب أن يكون عقلانيًا لتجنب انتشار السلالات المقاومة في الحيوانات والسكان.

الكلمات المفتاحية: مقاومة المضادات الحيوية ، الأبقار ، جين الإشريكية القولونية ، الحليب ، التهاب الضرع تحت الإكلينيكي.