

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



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

**Contribution à l'étude des mammites subcliniques dues à
Escherichia coli chez la vache laitière dans la région d'Ain
Témouchent**

Présenté Par :

- 1) Mlle BERRAHMOUNE Nour El Houda
- 2) Mlle BENTOUIR Rahmouna Nour Djihane

Devant le jury composé de :

Dr. DERRAG Zineb M C A UAT.B.B (Ain Témouchent) Président
Dr. MAHMOUDI Fatima M C A UAT.B.B (Ain Témouchent) Examineur
Dr. BOUAMRA Mohammed M C A UAT.B.B (Ain Témouchent) Encadrant

Année Universitaire 2021/2022

REMERCIEMENTS

Je remercie Dieu le tout puissant qui m'a donné la force, la patience ainsi que le courage afin de parvenir à achever ce travail.

En guise de reconnaissances, je remercie toutes les personnes qui, par leurs conseils, leur collaboration ou leur soutien moral et leur amitié ont contribué à la réalisation de ce mémoire :

Mr BOUAMRA Mohammed, M C A à l'UAT.B.B (Ain Témouchent) qui a accepté d'être mon directeur de mémoire, de m'avoir dirigé avec fermeté et gentillesse tout le long du travail ; avec ses suggestions pertinentes et ses encouragements, qui m'ont été d'une grande utilité, dieu le garde.

Mme DERRAG Zineb, M C A à l'UAT.B.B (Ain Témouchent) de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ce mémoire .Hommages respectueux.

Mlle MAHMOUDI Fatima, M C A à l'UAT.B.B (Ain Témouchent) pour l'honneur qui m'a fait en acceptant d'être membre de jury. Sincères remerciements.

On adresse également nos sincères reconnaissances à tous les enseignants du département des Sciences de la Nature et de la Vie et du département agroalimentaire qui ont participé à notre formation durant ce cursus.

En fin, nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous ceux qui nous ont soutenues physiquement ou moralement, qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

A l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce modeste travail.

Je dédie ce mémoire :

A l'homme, mon précieux offre du Dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher Père,

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargner aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable Mère,

A toi ma Grand-mère Rekia, à toi mon Grand-père Haj Madani, ceci est ma profonde gratitude pour votre éternel amour, que ce mémoire soit le meilleur cadeau que je puisse vous offrir, que Dieu vous donne une longue et joyeuse vie,

A mes sœurs Samira et son marie, nerdjes et Fatima zahra, et mon frère Madani, qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager, et me soutenir tout au long de mes études. Merci pour vos instructions, que Dieu vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie.

A mes tantes et oncles, ainsi que tous les membres de ma famille, petits et grands.

A ma sœur Sara, et Hbibba, pour leurs soutien moral, leur patience, et leur compréhension tout au long de ce projet,

A mes chères copines Soumia et ibtissem

A mon binôme dans ce travail, ma chère amie Djihane que j'aime beaucoup ainsi que toute sa famille.

A tous ceux ou celles que j'aime, que je n'ai pas mentionné mais que je n'ai pas oublié Merci d'avoir été toujours à mes côtés.

BERRAHMOUNE Nour El Houda

Dédicace

Essentiellement à la source de la tendresse, de la patience, de la générosité et celle qui m'a appris le secret de la réussite, mes chers parents.

Ma chère grand-mère pour son encouragement.

A Mon cher frères : Mohamed pour son amour et son disposition , à qui je souhaite une longue et belle vie.

A toute ma famille.

A ma collègue dans ce travail, et ma très chère amie Nour el Houda

Tous mes amis en souvenir de plus beaux instants qu'on a passé ensemble.

En fin, à toutes les personnes qui comptent pour moi, qui ont intervenu dans ma vie et qui m'ont accompagné et soutenu.

Et A tous qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer.

BENTOUIR Nour Jihane Rahmouna .

TABLES DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS

DÉDICACES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INTRODUCTION.....	1
PARTIE I :PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	4
1 Généralités sur les mammites	3
1.1 Définition des mammites.....	3
1.2 Classification des mammites	3
1.2.1 Mammite clinique	3
1.2.2 Mammite subclinique.....	4
2 Les mammites à <i>Escherichia coli</i>	4
2.1 Description de l'agent pathogène	4
2.1.1 Historique.....	4
2.1.2 Taxonomie et classification.....	5
2.1.3 Habitat et pouvoir pathogène	5
2.1.4 Caractéristiques bactériologiques de l'espèce.....	6
2.1.5 Description des pathotypes d' <i>Escherichia coli</i>	8
3 Physiopathologie des mammites à <i>E coli</i>	10
3.1 Infection et colonisation de la glande mammaire	10
3.1.1 Pathogénie	10
3.1.2 Réponse de l'hôte	12
4 Épidémiologie des mammites a <i>Escherichia coli</i>	15
4.1 Épidémiologie descriptive	15
4.1.1 Incidence et prévalence	15
4.1.2 Saisonnalité	15
4.2 Épidémiologie analytique	16
4.2.1 Facteur de risque des mammites a <i>E coli</i>	16
4.2.2 Facteur liée à l'hôte	16
4.2.3 Facteur liée à l'environnement.....	17

5	Impact des mammites à <i>E coli</i>	17
5.1	Impact économique.....	17
5.2	Impact sur la santé humaine	17
5.3	Impact technologique lors des mammites	18
6	Diagnostic des mammites subcliniques en élevage bovin laitier.....	18
6.1	Le Comptage Cellulaire Somatique Individuelle (CCSI).....	18
6.2	Le Taux Cellulaire du Tank (TCT).....	18
6.3	Le Californian Mastitis Test (CMT).....	19
6.4	Mesure de la conductivité électrique du lait.....	19
7	Traitement et mesures préventives.....	20
7.1	Traitement antibiotique.....	20
7.2	Résistance aux antibiotiques.....	21
7.3	Différents types de résistance	21
7.3.1	La résistance naturelle	21
7.3.2	La résistance acquise	22
7.3.3	Mécanismes de résistance	22
7.3.4	Résistance d' <i>E. Coli</i> aux antibiotiques.....	23
8	Prophylaxie	24
8.1	Prophylaxie médicale	24
8.2	Prophylaxie sanitaire	25
<i>PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE</i>		27
1	Objectifs de l'étude	27
2	Présentation de la de la région d'étude	27
3	Échantillonnage et la collecte des informations.....	28
4	Dépistage des mammites subcliniques.....	28
4.1	Principe et technique de réalisation	28
4.2	Lecture et interprétation.....	29
5	Prélèvements et analyse microbiologique.....	30
5.1	Prélèvement des échantillons de lait.....	30
6	Analyse microbiologique	31
6.1	Enrichissement.....	32
6.2	L'isolement.....	32
7	Identification des souches d' <i>Escherichia coli</i>	33

7.1	Identification morphologique	33
7.1.1	Examen macroscopique.....	33
7.1.2	Examen microscopique	33
7.1.3	Examen direct à l'état frais.....	33
7.1.4	Test de la coloration de Gram	34
7.2	Identification biochimique.....	34
7.2.1	Gélose TSI (Triple Sugar Iron)	34
7.2.2	Mannitol-mobilité.....	35
7.2.3	Test à l'ONPG (OrthoNitroPhényl β -D-Galactopyranoside).....	35
7.2.4	Test de catalase.....	36
8	Antibiogramme des souches <i>Escherichia coli</i> isolées	36
8.1	Préparation de l'inoculum bactérien.....	36
8.2	Ensemencement, application des disques et incubation	36
8.3	Lecture et Interprétation des résultats.....	37
1	Résultats et discussion	32
1.1	Analyse descriptive des vaches laitières suivies.....	32
1.1.1	Répartition des vaches selon la parité	32
1.1.2	Répartition des vaches selon la race.....	32
1.1.3	Répartition des vaches selon le stade de lactation.....	33
1.2	Résultats du CMT	33
1.2.1	Effet du stade de lactation sur les résultats du CMT.....	34
1.2.2	Effet du numéro de lactation sur les résultats du CMT.....	34
1.2.3	Effet de la race sur les résultats du CMT	35
1.3	Résultats de l'examen bactériologique	36
1.3.1	Prévalence d' <i>Escherichia coli</i> isolées lors de mammites subcliniques.....	36
1.3.2	Résultats de l'antibiogramme.....	37
2	Discussion	38
	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	40
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	49

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Situation géographique de la wilaya d'Ain Témouchent	28
Figure 2: Technique de réalisation du Californian Mastitis Test (CMT).....	29
Figure 3: les échantillons du lait	31
Figure 4: Réalisation de l'enrichissement	32
Figure 5: Incubation à 37°C pendant 24h.....	37
Figure 6: Répartition des vaches selon la parité.....	32
Figure 7: Répartition des vaches selon la race	33
Figure 8: Répartition des vaches selon le stade de lactation	33
Figure 9: Résultats du CMT par rapport aux vaches examinées.....	34
Figure 10: Effet du stade de lactation sur les résultats du CM.....	34
Figure 11: Effet du numéro de lactation sur les résultats du CMT	35
Figure 12: Effet de la race sur les résultats du CMT.....	36
Figure 13: Les colonies d' <i>E. coli</i> sur le milieu gélose MacConkey et EMB.....	36
Figure 14: Prévalence d' <i>Escherichia coli</i> isolées lors de mammites subcliniques	37
Figure 15: Pourcentage de sensibilité et de résistance des <i>E. coli</i> aux antibiotiques	38

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Score de sévérité des mammites cliniques.....	4
Tableau 2: Interprétation du Leucocyttest selon les indications accompagnant le réactif	30
Tableau 3: Liste des antibiotiques utilisées et leurs charges respectives	37
Tableau 4: Profil de sensibilité des <i>E. coli</i> vis à vis de 10 antibiotiques	38

LISTE DES ABRÉVIATIONS

E COLI : *ESHERICHIA COLI*

CCSI : la Concentration en Cellules Somatiques Individuelles.

CMT : Californian Mastitis Test

NMC : National Mastitis Council

QPG : Quartier Postérieur Gauche

QAG : Quartier Antérieur Gauche

QPD : Quartier Postérieur Droit

QAD : Quartier Antérieur Droit

BHIB : Brain-Heart Infusion Broth

EMB : EOSIN METHYLENE BLUE
AGAR

ONPG : L'Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside

CLSI : Clinical and Laboratory Standards
Institute

EUCAST/CA-SFM Comité
d'Antibiogramme de la Société Française
de Microbiologie

ETEC : *E. coli* entéro-toxinogène

EPEC : *E. coli* entéro-pathogène

SETC : *E. coli* producteur de toxine Shiga

VTEC : Verotoxinogène

EXPEC : *E. coli* extra-intestinaux

TCT : Taux Cellulaire du Tank

AAF : aero anaerobi facultative

ADH : Argentine dihydrolase

LPS : LIPOPOLYSACHARIDE

STA : Thermostable

LT : Thermosensible

FAE : FACTEUR ATTACHANT
EFFAÇANT

TIR : RÉCEPTEUR INTIMINE

PNMS : POLYMORPHONUCLÉAIRES

STX : TOXINE SHEGA

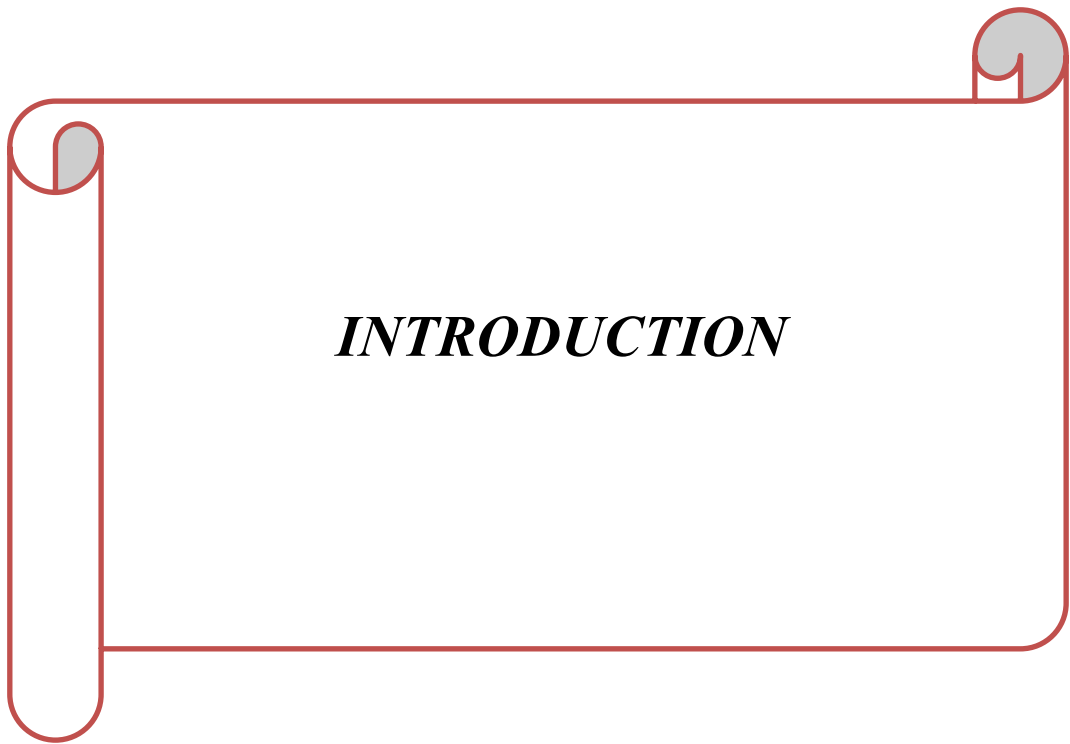
VT : VIROTOXINE

CE : CONDUCTIVITÉ ÉLECTRIQUE

TSI : TRIPLE SUGAR IRON

ONP : ORTHO-NITRO-PHYNOL

H2O2 : PEROXYDE D'HYDROGÈNE



INTRODUCTION

INTRODUCTION

En Algérie, le secteur laitier revêt un caractère stratégique eu égard à son impact sur dans le développement agricole et à sa place sur le plan socio-économique. Les besoins de son extension et de son développement constituent un enjeu majeur pour la politique agricole du pays. Il constitue l'un des piliers de notre sécurité alimentaire. La consommation de lait occupe une place très importante dans l'alimentation journalière de la population afin de combler le manque en protéines d'origine animale et à cause du prix réduit subventionné par l'état (Yakhlef et al., 2010). Toutefois, il est utile et nécessaire, pour la compréhension de la problématique de l'élevage laitier de cerner les atouts et les contraintes de l'élevage bovin laitier ainsi que les solutions possibles. Or, la rentabilité de ce type d'élevage dépend de la maîtrise de l'alimentation et du contrôle de certaines pathologies comme les infections mammaires.

Les mammites sont les pathologies les plus coûteuses en élevage laitier et leur diagnostic est l'une des clés pour limiter leurs effets. Les mammites sont un véritable fléau dans nos élevages bovins laitiers, ils représentent une entrave à la production au niveau des élevages spécialisés dans la production laitière. Elles se définissent comme étant l'inflammation d'un ou de plusieurs trayons 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 (Hansen, 2015). Elles sont souvent de type subclinique. Elle cause des pertes économiques, d'une part, 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), et d'autre part, par la baisse de la qualité hygiénique et nutritive du lait et de ses produits dérivés (Fartas et al, 2017). De par l'incidence des mammites subcliniques, la santé humaine peut se trouver compromise par la présence d'agents pathogènes et ou des toxines dans le lait ainsi que les résidus d'antibiotiques résultant de leurs traitement, En effet, *Escherichia coli* est un des trois principaux pathogènes responsables de mammites, avec *S. aureus* et *Streptococcus uberis* chez les bovins (Keane et al., 2013). Par ailleurs, une augmentation des mammites subcliniques dues aux germes à réservoir environnemental comme *Escherichia coli* été constatée et ce malgré les mesures de lutte mises en place. Les *Escherichia coli* viennent en tête des germes d'environnement et font actuellement une augmentation nette de la prévalence des mammites qui, par conséquent, devient un sérieux problème dans de nombreuses fermes laitières. Par ailleurs, il faut signaler que dans notre pays, le dépistage des

mammites subcliniques ne se fait pas systématiquement et sans recherche de l'agent étiologique, de plus leur traitement se fait avec des antibiotiques à spectre large. Toutefois, malgré l'emploi abusif de ces antibiotiques on constate dans certains cas une inefficacité du traitement et ceci soulève naturellement des craintes quant à la survenue des antibiorésistance. Par conséquent, la résistance bactérienne aux antibiotiques est devenue un sujet de préoccupation croissante pour le grand public et fait l'objet d'un intérêt scientifique accru

L'objectif général de ce travail est de déterminer la prévalence des mammites subcliniques dans la région d'Ain Témouchent. Cet objectif se décline en quatre objectifs spécifiques qui ont consisté à :

- 1) Évaluer la prévalence des mammites subcliniques dans quelque élevage bovin laitier par un test CMT (Californian Mastitis Test) dans la wilaya d Ain-Temouchent
- 2) Déterminer la prévalence des mammites subclinique due aux *E Coli*
- 3) Détermination du profil de résistance et de sensibilité de ces bactéries vis-à-vis des antibiotiques utilisés en routine dans la thérapeutique vétérinaire.
- 4) Et, enfin, évaluer l'impact de l'application des mesures d'hygiène sur la prévalence des mammites



PAPARTIE I :PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1 Généralités sur les mammites

1.1 Définition des mammites

Une mammite est une inflammation du parenchyme des glandes mammaires, touchant un ou plusieurs quartiers, quelle que soit l'origine traumatique, physique, chimique, biologique, la gravité et le mode d'évolution. Comme tout phénomène infectieux, une mammite fait intervenir trois acteurs : la bactérie, l'hôte (et plus précisément ses mécanismes de défense) et l'environnement. L'impact d'une infection mammaire varie selon les germes et l'hôte, conduisant à différentes entités cliniques : les mammites cliniques et les mammites subcliniques. Cette sévérité dépend notamment de la nature de l'agent pathogène, de l'âge et de la race de l'animal, de son statut immunitaire ou encore de son stade de lactation (**Rémy, 2010 ; Srivastava et al., 2015**). C'est la pathologie la plus fréquente dans les élevages laitiers et la plus coûteuse au niveau des industries laitiers (**Halasa et al., 2007**).

1.2 Classification des mammites

1.2.1 Mammite clinique

Une mammite clinique se définit comme une infection de la glande mammaire associée à l'apparition de signes cliniques (secondaires à l'inflammation mammaire) objectivables. Selon l'intensité de la réponse inflammatoire, les signes cliniques peuvent être rencontrés à différents étages (aspect des sécrétions lactées ; atteinte de la mamelle voire atteinte de l'état général), conduisant à définir des grades de mammites. Une mammite clinique de grade 1 est caractérisée par une modification de l'aspect du lait seule. Lors de signes cliniques d'inflammation du quartier (chaleur, douleur, gonflement) associés à l'altération du lait mais sans atteinte de l'état général de l'animal, un grade 2 sera attribué à la mammite clinique. Enfin une mammite clinique de grade 3 correspondra à une mammite avec modification du lait, inflammation du quartier et atteinte de l'état général. (**Durel et al., 2011**).

Tableau 1: Score de sévérité des mammites cliniques (Roy et Schmitt, 2014, Royster et Wagner, 2015)

Grade	sévérité	signes cliniques	% des cas de mammite clinique
1	faible	modification de l'apparence du lait (secrétions aqueuses, grumeaux)	50-60%
2	modérée	modification de l'apparence du lait et signes d'inflammation du quartier (rougeur, douleur, chaleur, induration)	30-40%
3	sévère	atteinte systémique de l'animal (abattement, fièvre, anorexie, décubitus, déshydratation) et signes locaux	5-10%

1.2.2 Mammite subclinique

Par opposition aux mammites cliniques, les mammites subcliniques se caractérisent par l'absence de répercussion clinique de l'inflammation mammaire, général est normal la mamelle est saine et l'aspect du lait ne présente aucune modification. L'inflammation mammaire se caractérise par une augmentation de la concentration en leucocytes ou cellules somatiques (les neutrophiles notamment qui augmentent lors d'infection mammaire) au-dessus d'un seuil (Desert et Riou, 2014). Une vache est considérée comme saine (c'est-à-dire ne présentant pas de mammite) lorsque la concentration en cellules somatiques individuelles (CCSI) du lait composite (mélange issu des quatre quartiers) est inférieure à 300 000 cellules/ml (Roussel et al., 2011). Il est également généralement admis que la vache est infectée lorsqu'une vache présente une CCSI supérieure à 800 000 cellules/ml. Entre 300 000 cellules/ml et 800 000 cellules/ml, la vache est considérée comme douteuse. Cette définition permet de définir les animaux infectés de manière subclinique (Sérieys, 1985).

2 Les mammites à *Escherichia coli*

2.1 Description de l'agent pathogène

2.1.1 Historique

Escherichia coli a été décrit pour la première fois en 1885 après avoir été isolée dans des selles de nourrissons par l'allemand Theodor Escherich. En 1919, Castellani et Chambert lui rendent hommage en nommant cette bactérie *Escherichia coli* (Grimont, 1987). Durant

les années 1920 et 1930, plusieurs chercheurs essayèrent d'identifier les types spécifiques de *E. coli* responsables des entéropathies, mais aucun progrès significatif ne fut réalisé jusqu'à la mise au point par Kauffmann, dans les années 1940, d'un schéma de sérotypes précis. Ainsi, à partir des années 1950, de nombreuses souches de *E. coli* appartenant à des sérotypes particuliers ont été répertoriées, chez l'homme comme chez l'animal, comme étant des souches pathogènes responsables d'affections variées allant d'une simple diarrhée à des infections systémiques sévères voire mortelles (Nataro et Kaper, 1998 ; Kaper et al., 2004). Elle est commensale de la flore digestive des animaux. Elle est massivement excrétée dans les fèces et dans l'environnement. Lors de mammite bovine, les bactéries isolées ne sont pas considérées comme un groupe pathogène spécifique mais semblent provenir de la flore digestive et de l'environnement (Richards et al, 2015).

2.1.2 Taxonomie et classification

Escherichia coli représente l'espèce type du genre *Escherichia*. Le genre *Escherichia* appartient à la famille des Enterobacteriaceae dans le règne des procaryotes. Le genre *Escherichia* comprend: *Escherichia albertii*, *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii* et *Escherichia vulneris* (Octavia et Lan, 2014). Chaque espèce d'*Escherichia* présente des caractéristiques biochimiques propres permettant de les différencier les unes des autres (Vimont, 2007). De plus, selon les critères modernes de taxonomie bactérienne, les genres *Shigella* et *Escherichia* sont identiques. La classification de l'espèce se présente comme suit :

Règne : *Procaryotae*

Phylum: *Proteobacteria*

Classe: *Gammaproteobacteria*

Ordre: *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Escherichia*

Espèce : *Escherichia coli*.

2.1.3 Habitat et pouvoir pathogène

E coli est classé comme un pathogène opportuniste de l'environnement. L'espèce *E. coli* appartient à la microflore commensale de l'Homme et de nombreux animaux.

Escherichia coli est un agent ubiquiste faisant partie de la flore gastro-intestinale normale des mammifères (**Gordon et Cowling, 2003**). on le retrouve en grand quantité (des concentrations environ 10^6 UFC/g de contenu intestinal) dans la flore gastro-intestinal (au niveau du colon et du cæcum) (**Smati et al., 2015**) qui est l'origine de la contamination dans lequel évoluent les vaches (logette, aire paillée) (**Ducluzeau et Raibaud 1985 ; Bean et al ,2004 ; Wenz et al 2006 ; Suojala et al ,2011**). La plus part des souches d'*E coli* sont inoffensives par contre, certaines souches ont réussi à acquérir des attributs spécifiques leur permettant une adaptation à de nouvelles niches et leur offrant la capacité de causé diverse maladies (**Kaper et al, 2004**). Donc, *E coli* est une cause importante de maladie chez la plupart des mammifères, ces attributs spécifiques sont encodés au niveau d'éléments génétiques qui peuvent être mobilisés vers déférentes souches afin de créer de nouvelles combinaisons de facteurs de virulence ou sur des éléments génétiques qui ont peut-être déjà mobiles, mais qui sont maintenant ancrés au niveau du génome. Les combinaisons de facteurs de virulence qui se sont vue les plus favorables ont su persister afin de devenir un pathotype spécifique d'*E Coli* capable se provoqué la maladie chez des individu sains (**kaper et al,2004 ; Croxen et Finlay, 2010 ; Conrad et al., 2016**).

2.1.4 Caractéristiques bactériologiques de l'espèce

2.1.4.1 Caractères cultureux

E. coli est une bactérie mésophile, son optimum de croissance est proche de la température corporelle des animaux à sang chaud (35-43°C). La plupart des souches de *E coli* sont capables de multiplier sur des milieux ordinaires à base de peptone ou d'extraits de viande et sont non halophiles. Elles sont aéro-anaérobies facultatives (AAF) formant sur des milieux gélosés ordinaires ou sélectifs des colonies typiques de types (S) (**Minor et Richard, 1993 ; Cohen et Karib, 2006 ; Jean et al., 2007**). Elle se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques (**Avril et al., 2000**). La limite de croissance inférieure se situe aux environs de 7°C. Les *E. coli* sont tués rapidement lorsque la température dépasse 70°C, comme dans le processus de pasteurisation. Outre la température, le pH et l'*a_w* peuvent aussi influencer la multiplication d'*E. Coli* dont l'optimum de croissance est de 7,2 et 0,99 respectivement. La croissance d'*E. Coli* est arrêtée à des pH extrêmes (<3,8 ou >9,5) et à une valeur d'*a_w* inférieure à 0,94. Le degré d'acidité d'un

produit peut donc constituer un facteur de protection pour sa sécurité (**Jean et al., 2007 ; Micali et al., 2018**).

2.1.4.2 Caractéristiques biochimiques

Les bactéries appartenant à l'espèce *Escherichia coli* possède des caractères biochimiques particuliers permettant de la différencier des autres espèces (**Farmer et al., 2007**). Les *Escherichia coli* fermentent le glucose avec souvent production de gaz, ne produisent pas d'enzymes extracellulaires (protéases, DNases, lipases), ne produisent pas d'H₂S, n'hydrolysent pas l'urée, ne désaminent pas le tryptophane ou la phénylalanine. Les *E. coli* fermentent également l'arabinose, le mannose, le mannitol, et le maltose, mais pas l'inositol, et ont souvent un test de l'ONPG positif. *E. coli* possède une catalase mais dépourvue de l'oxydase, elle produit de l'indole à partir du tryptophane et n'utilise pas le citrate comme source de carbone. Elle ne possède pas d'arginine dihydrolase ADH (**Joly et Reynaud, 2006 ; Freney et al., 2007**). Par contre, elle produit une réaction positive au méthyl rouge mais négative à la réaction de Voges-Proskauer (**Minor et Richard, 1993 ; Freney et al., 2007**).

2.1.4.3 Caractères Morphologique

E. coli est un bacille de forme cylindrique (bâtonnet) ou coccobacillaire, Gram négatif uniformément coloré, non sporulé, parfois capsulé, de 2µm à 3µm de long sur 0,5µm de large, généralement polymorphes. Les cellules de *E. coli* se présentent soit seules ou groupées, le plus souvent par deux (diplobacilles), très rarement elles sont rencontrées en amas ; elles sont mobiles grâce à une ciliature péritriche. Les colonies ont un aspect bombé, lisse et rond (**Minor et Richard, 1993 ; Hanes, 2003 ; Gorden 2003 ; Grosjean et Pasquier, 2009**).

2.1.4.4 Caractères antigéniques

E. coli possède des antigènes associés à quatre types de structures. Les antigènes de paroi (somatiques) ou antigènes O correspondent aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS). Les antigènes de flagelles ou antigènes H de nature protéique qui sont constitués de flagellines. Les antigènes de surface de type F présents chez les souches ayant des propriétés d'adhésion et les antigènes d'enveloppe K qui sont de nature polysaccharidiques (**Kaper et al., 2004**). Le sérotypage est un critère utile pour identifier les souches pathogènes de *E. coli* dans les échantillons alimentaires, environnementaux et cliniques, et pour la compréhension de

l'épidémiologie (**Wang et al., 2010**). L'identification des différentes souches d'*E. coli* se fait selon trois classes d'antigène de surface : Les antigènes de surface : O, Les antigènes flagellaires : H Les antigènes capsulaires : K (**Richards et al, 2015**)

2.1.5 Description des pathotypes d'*Escherichia coli*

Les principaux pathotypes chez les animaux de consommation sont les *E. coli* entéro-toxinogène (ETEC); *E. coli* entéro-pathogène (EPEC); *E. coli* producteur de toxine Shiga (STEC) ou verotoxinogène (VTEC); et *E. coli* extra-intestinaux (ExPEC) (**Fairbrother et Nadeau, 2010**).

2.1.5.1 *E coli* entéro-toxinogène (ETEC)

Les souches d'*E. Coli* entéro-toxinogènes (ETEC) sont majoritairement associées à deux syndromes cliniques importants. Elles sont la cause la plus importante de diarrhée chez les animaux de consommation (**Gyles et Fairbrother ,2008**). Les bactéries pathogènes qui contaminent l'environnement sont ingérées par les animaux susceptibles et entrent dans le tractus intestinal. Les ETEC colonisent essentiellement la partie proximale de l'intestin grêle grâce à leurs « facteurs de colonisation » (CFAx et CSx) qui sont des adhésines fimbriaires (**Cassels et Wolf, 1995**). Ces facteurs permettent l'adhésion à des récepteurs spécifiques sur les cellules épithéliales de l'intestin. Cette colonisation bactérienne se retrouve principalement sur les muqueuses du jéjunum ou de l'iléon. les entérotoxines produites par les ETEC peuvent être thermostables (STA) ou thermosensibles(LT) qui stimulent la sécrétion d'eau et d'électrolyte dans la lumière intestinale, entraînant de la déshydratation, une diminution du gain de poids, et/ou la mort de l'animal (**Gyles et Fairbrother, 2010**).

2.1.5.2 *E coli* entéro pathogène (EPEC)

Les EPEC sont le plus souvent associées à de la diarrhée post sevrage chez le porc. Ce pathotype n'est pas d'importance majeure chez les ruminants. Les EPEC s'attachent intimement aux cellules de l'épithélium intestinal par le biais d'une protéine de la membrane nommée ou facteur attachant effaçant (Eae). Les EPEC envoient un signal aux cellules épithéliales, par le biais du système de sécrétion de type 3 (TTSS) et des protéines secrétées. ce signal engendre une augmentation du calcium intracellulaire l'activation des kinases et récepteur de l'intimine (Tir). L'attachement intime des EPEC se fait grâce à la reconnaissance de Tir et des récepteurs cellulaires de l'hôte par l'intimine et Grâce à certains changements au

niveau du cytosquelette des cellules de l'hôte, Les signaux de la bactérie stimulent l'effacement des microvillus, et EPES et réorganisent le cytosquelette de la cellule. Les bactéries adhérees stimulent aussi la dégénération de la cellule épithéliale et l'infiltration de neutrophiles polymorphonucléaires (PMNs). Ces changements cellulaires peuvent entraîner de la diarrhée, et l'activation de sécrétion des cellules épithéliales et par la perte de jonction serrées entre les cellules épithéliales (**Gyles et Fairbrother, 2010**).

2.1.5.3 *E coli* producteur de toxine shiga (SETC)

Les ruminants sont les principaux réservoir de SETC (**karmali 2005**) Ces *E coli* produise une toxine Shiga(Stx) ou verotoxine(VT) bactéries possèdent des qui permettent l'adhésion à des récepteurs spécifiques sur les cellules épithéliales de l'intestin à l'aide de l'intimine ou du facteur Eae. Cette colonisation bactérienne se retrouve principalement sur les muqueuses du jéjunum et/ou de l'iléon. La bactérie adhéree produit une qui est transportée à travers les cellules épithéliales jusque dans la circulation sanguine. Cette toxine produit ses effets dans les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins, provoquant de l'œdème dans différents tissus, entraînant ainsi la manifestation de plusieurs symptômes tels que l'ataxie et hémorragique et la mort de l'animal.

2.1.5.4 *E coli* extra intestinal

Les ExPEc représentent un problème majeur par leur fréquence de facteurs de virulence extra-intestinaux, *E coli* se sont es pathogènes opportunistes puisqu'elles font partie de la microflore normale et colonisent différentes surfaces mucosales, dont celle des tractus intestinal et respiratoire, et ce, probablement à l'aide d'. adhésines fibriares Ces bactéries internalisées ont la capacité de résister aux effets létaux du complément et des phagocytes. La bactérie peut ensuite produire des toxines qui endommagent les tissus La libération d'entérotoxines par la bactérie morte peut déclencher des réponses cytokinaires pouvant entraîner un choc et la mort de l'animal. Dans les cas d'infections localisées, il peut y avoir interaction avec les matrices extracellulaires pouvant entraîner différentes conditions telles qu'une pneumonie, une sérosite, une mammite ou des infections du tractus urinaire (**johnson et Russo 2002**).

3 Physiopathologie des mammites à *E. coli*

3.1 Infection et colonisation de la glande mammaire

En ce qui concernant la mammité à *E. coli*, la principale source d'infection est la matière fécale présente dans l'environnement des vaches (**Wenz et al., 2006 ; Blum et al., 2008**). 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 mammité. Ainsi, la transmission horizontale lors de la traite entre un animal infecté et un animal sain est minime dans la plupart des cas, sauf pour les isolats capables d'établir des infections chroniques. Le lactose est le principal carbohydrate dans le lait et l'oxygène est présent en très petite quantité.

Donc l'infection peut se produire au moment de la traite, entre les traites ou même en dehors de la période de lactation. La diffusion d'*E. coli* dans la glande mammaire par voie vasculaire ou lymphatique apparaît minime. Les infections mammaires causées par les germes à Gram négatif sont surtout dues à la pénétration dans la glande à travers le sphincter, et la multiplication dans le canal du trayon et la citerne, avant de diffuser à une part plus ou moins grande dans les canaux lactifères de la glande (**Hogan et Smith, 2003**).

3.1.1 Pathogénie

La pathogénie de la mammité se décompose en trois phases :

- 1) Entrée dans la glande mammaire (Passage à travers le sphincter)
- 2) Multiplication dans la glande mammaire
- 3) l'adhésion, colonisation et Persistance

3.1.1.1 Entrée dans la glande mammaire

Le sphincter et le canal du trayon correspondent à la porte d'entrée des germes coliformes dans la glande mammaire. La mammité se développe lorsque que des germes passent au-delà du sphincter du trayon. Généralement, ceci a lieu après la traite, lorsque le canal du trayon est toujours ouvert. Suite au contact direct avec l'environnement contaminé, *E. coli* pénètre au niveau du trayon et se multiplie dans la citerne du trayon et diffuse dans les sinus lactifères. Toutefois, les mécanismes initiaux de diffusion restent encore méconnus mais il est probable qu'une partie du canal soit contournée. Le sphincter et le canal du trayon sont

donc des barrières physiques. C'est une zone kératinisée où existent de fortes concentrations d'antibactériens, qui n'est donc pas propice à la colonisation par *E. coli* (Hogan et Smith, 2003). L'intensité de la réponse de l'hôte déterminera l'apparition des signes cliniques (Fairbrother et Nadeau, 2010).

3.1.1.2 Multiplication dans la glande mammaire

La glande mammaire ne possède pas de flore résidente. Il est admis que les surfaces épithéliales sont physiologiquement dépourvues de bactéries, même si cette notion est actuellement largement débattue. L'adhérence d'*E. coli* à l'épithélium mammaire ne semble pas jouer un rôle dans la pathogénicité des mammites (Opdebeck et al, 1999). En effet, les bactéries ne semblent pas coloniser la glande mammaire mais plutôt se multiplier dans les sécrétions sans attachement à l'épithélium (Morin, 2009). Le métabolisme d'*E. Coli* doit s'adapter rapidement afin que ceux-ci se multiplient et augment leurs nombres et causent la maladie. Ainsi, la sévérité de la mammite est proportionnelle à la concentration de bactéries capable de se multiplier dans les sécrétions mammaires (Hogan et Smith, 2003).

Deux facteurs de virulences sont importants pour les *E. coli* à ce stade de l'infection ; l'utilisation du lactose et l'acquisition du fer. En effet, les *E. Coli* sont capables d'utiliser le lactose comme source d'énergie et ainsi de survivre dans des conditions proches de l'anaérobiose. La réponse de l'hôte face à la présence d'*E. Coli* dans la glande mammaire dépend du stade de la lactation. Les sécrétions provenant d'une glande mammaire tarie ne supportent pas la croissance et la multiplication des coliformes. À ce stade, la concentration de lactoferrine augmente rendant le fer indisponible pour bactéries. Contrairement à *Klebsiella*, les *E. Coli* maîtrisent assez difficilement les effets inhibiteurs de la lactoferrine et donc sont moins aptes à infecter la glande mammaire en involution. Toutefois, cette infection est possible par l'utilisation d'un système qui permet de capter le fer avec une plus grande affinité que celle de la lactoferrine. Ce système joue un rôle primordial dans la pathogénicité de l'infection durant la période sèche. Par contre, en période de parturition ou durant les premières semaines de la lactation, la multiplication plus grande d'*E. Coli* dans la glande mammaire est permise par plusieurs facteurs, dont les principaux sont la faible concentration de la lactoferrine dans le lait durant cette période rendant le fer disponible pour les bactéries, et une réponse plus tardive et moins efficace des neutrophiles (Fagiolo et lai, 2007 ; Smith, 2009).

3.1.1.3 Adhésion et colonisation

L'adhésion des microorganismes au niveau des cellules de l'hôte est la première étape de la colonisation (**Döpfer et al., 2000**). En général, les bactéries n'envahissent pas le tissu mammaire mais restent dans la lumière de la glande, citernes et sinus lactifères. Plusieurs adhésines ont été associées avec la pathogénie d'*E. coli* lors de maladie chez les bovins. Lors de mammites sévères d'évolution aiguë, la pathogénicité n'est pas liée à l'invasion et à la colonisation de l'épithélium. 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 (**Burvenich et al, 2003**).

3.1.1.4 Persistance

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. Suivant les facteurs de virulence, de la gestion du troupeau par l'éleveur, ainsi que de l'efficacité des défenses de l'animal (**Keane, 2016**). L'évolution se fait vers : la guérison spontanée, tant que la réponse de l'organisme est suffisante et précoce. La persistance de l'infection c'est l'équilibre entre la multiplication des microorganismes et les défenses de l'animal, la souche d'*E.coli* puissent de causer des infections persistantes dans la glande mammaire sans développement d'une réponse immune significative, et capable de survivre à l'intérieur de neutrophiles. Récemment il a été démontré que ces souches associées à des infections chronique elles sont capable de pénétrer les cellules mammaire épithéliales plus efficacement que les souches associées à des infections aiguë. Et que ce mécanisme nécessitait un réarrangement du cytosquelette de la cellule hôte (**Zadoks et al., 2011 ; Islam et al., 2020**). L'extension de l'infection pouvant induire à la perte complète ou partielle de fonctionnalité de la glande, et à la mort de l'animal dans les cas extrêmes (**Yu et al., 2018**).

3.1.2 Réponse de l'hôte

La glande mammaire a pour rôle la production du colostrum et du lait, ainsi, pour réduire la probabilité d'apparition d'une infection mammaire, la glande mammaire des bovins

possèdent des mécanismes de défense qui limitent la pénétration et la colonisation des bactéries (**Hanzen, 2010**).

3.1.2.1 Défenses basses de la mamelle – défenses « physiques »

Le canal du trayon représente la première ligne de défense contre les mammites bovines, la contamination de la mamelle se faisant quasi exclusivement par voie diathélique (à l'exception notable de *Mycoplasma bovis*). Le tout premier niveau de défense de la mamelle est représenté par le sphincter du canal du trayon. La peau du trayon est glabre et dépourvue de glandes ou de muqueuses. L'hydratation de la peau du trayon est donc un élément important car elle permet de créer une pellicule hydro-lipidique recouvrant l'épiderme. Cette dernière permet de limiter l'adhésion et la pénétration de germes pathogènes. De même, le bout du trayon contient des fibres musculaires permettant la fermeture du canal du trayon entre les traites. Après la traite, un délai de deux heures est nécessaire pour permettre la contraction du sphincter conduisant à la fermeture complète du canal du trayon. Le sphincter empêche donc la pénétration des bactéries (**Rémy, 2010**). La séparation physique des quartiers est permise par la lame fibreuse qui partage la mamelle en deux hémimamelles ; elle permet de limiter la diffusion par proximité d'un agent infectieux entre les hémimamelles. Toutefois, les parenchymes des quartiers arrière et avant d'un même côté sont contigus. Ainsi l'infection peut diffuser d'un même côté (**Rainard et Riollet, 2006 ; Rémy, 2010**).

Ce canal est scellé entre les traites et durant la période sèche par un bouchon de kératine dérivé de l'épithélium stratifié tapissant le canal. Ce bouchon, collant, constitue un piège mécanique pour les bactéries, il joue un rôle de barrière physique permettant de prévenir la pénétration des bactéries qui s'engluent dans cette couche. La kératine peut aussi fixer et immobiliser certaines souches de bactéries non encapsulées. Il s'agit du phénomène d'adsorption. L'éjection des premiers jets permet l'élimination de ce bouchon de kératine ainsi que des bactéries piégées qu'il contient (**Boudry 2005 ; Rainard et Riollet, 2006**). La paroi du canal du trayon est aussi recouverte de nombreux acides gras aux propriétés antibactériennes bactériostatiques comme l'acide myristique, palmitoléique et linéoléique. A l'extrémité interne du canal se trouve la rosette de Fürstenberg qui constitue une barrière mécanique avec un repli muqueux, mais surtout une formation lymphoïde qui constitue le point d'entrée et d'activation des leucocytes (**Boutet, 2006**).

3.1.2.2 Défenses « hautes » de la mamelle - défense immunitaire

Outre les barrières physiques, les barrières naturelles sont toutefois insuffisantes à prévenir totalement l'infection, et certains germes parviennent à traverser le canal du trayon pour gagner la citerne située au-delà. L'immunité de l'hôte assure la seconde ligne de défense. Elle peut être divisée en deux types : immunité innée et acquise. Ces deux catégories d'immunité coopèrent afin de maintenir l'intégrité de la mamelle (**Janeway et Medzithov, 2002**). Les défenses immunitaires sont assurées par des cellules produites par la moelle osseuse, les leucocytes. Même en absence d'infection, celles-ci sont présentes dans la glande à des concentrations entre 50.000 à 200.000 cellules par millilitre de lait (**Sordillo et al., 1997; Bradley et al., 2002**).

L'immunité innée, ou non spécifique, est particulièrement importante lors d'une première exposition à un agent pathogène. Les réponses non spécifiques sont déjà présentes et rapidement activées au site d'infection. La réponse immunitaire innée est principalement médiée par les macrophages, neutrophiles, les « Natural Killer » ainsi que d'autres facteurs solubles. Les macrophages constituent le type majoritaire de cellules dans le lait, dans les sécrétions de la mamelle sèche et dans le tissu mammaire (**Mehrzaad et al., 2002**). Ces macrophages mammaires jouent probablement un rôle défensif direct même si cette fonction est remise en question par certains auteurs. La contribution des polynucléaires neutrophiles présents dans le lait non infecté n'est pas totalement éclaircie. De plus, la plupart de ces neutrophiles sont non viables ou en voie d'apoptose (**Rainard et Riollot, 2006**). Néanmoins la présence de neutrophiles dans le lait est associée à une réduction du risque d'infection intra mammaire, et la viabilité des neutrophiles avant infection permet de limiter la sévérité des mammites à Gram négatif (**Mehrzaad et al., 2004 ; Burton et Erskine, 2003**). Au niveau de la mamelle, les cellules NK jouent un rôle dans l'élimination des pathogènes extracellulaires (**Sordillo et al., 2005 ; Rainard et Riollot, 2006**). Les principaux effecteurs solubles du système immunitaire sont les anticorps produits par les lymphocytes B dont quatre classes participent à l'immunité mammaire, les IgG1/2, les IgA et les IgM (**Rainard et Riollot, 2006 ; Oviedo-Boyso et al., 2007**).

4 Épidémiologie des mammites a *Escherichia coli*

4.1 Épidémiologie descriptive

4.1.1 Incidence et prévalence

Les mammites subcliniques sont des affections insidieuses des glandes mammaires. Ils impactent négativement la production de la vache laitière, il s'avère nécessaire de faire le diagnostic en vue de le contrôler (**Kalandi et al., 2017**). Les mammites a *E coli* sont devenues la cause la plus fréquente de mammité en début de lactation (**Hill 1994**). L'incidence des mammites due à *E coli* varie d'un pays à l'autre ; se situant généralement 2 et 15 %, par contre une incidence plus élevée atteignant 50 % a été rapportée dans certains pays (**Poutrel 2008 ; Fairbrother et Nadeau 2010**). Cependant, l'utilisation d'un produit de pré-trempage au moment de la traite peut réduire l'incidence des nouvelles infections par les coliformes pendant la lactation. Cependant l'utilisation d'un produit de post-trempage semble quant à elle inefficace dans le contrôle des mammites dues à *E coli*. Les produits utilisés (de pré-trempage et post trempage) permettent de diminuer une grande proportion des bactéries coliformes déjà présentes sur les trayons, mais leur propriété antibactérienne diminue rapidement après leur application (**Penkay et al 1989 ; Bergonier 2014**).

4.1.2 Saisonnalité

L'apparition de nouvelles infections dues aux coliformes pendant la période sèche et la lactation sont influencées par la saison. Des taux plus grands de nouvelles infections et d'apparition des cas cliniques a été enregistrées durant les mois les plus chauds de l'année. En effet, le nombre de bactéries à Gram négatif dans la litière est élevé en été et plus bas en hiver. Cependant, selon **Todhunter et al, (1991)** ces nouvelles infections seraient attribuables à une plus grande concentration de *Klebsiella* spp durant ces mois. Bien que le nombre de mammites causées par *E. coli* soit plus élevé durant l'été, cette augmentation reste faible. En effet, le nombre d'infections dues aux bactéries *E. coli* reste relativement constant au cours des saisons comparativement aux infections à *Klebsiella* spp. Ceci implique que l'exposition à la bactérie *E. coli* est plus constante au cours des saisons que l'exposition à *Klebsiella* spp.

4.2 Épidémiologie analytique

4.2.1 Facteur de risque des mammites à *E. coli*

4.2.1.1 Facteurs liés à l'espèce bactérienne

L'espèce bactérienne en cause joue surtout un rôle dans l'infection de la glande. *Escherichia coli* est une bactérie de la famille des entérobactéries, de Gram négatif. Il s'agit de l'agent pathogène le plus souvent isolé lors de mammites cliniques aiguës chez la vache laitière (**Poutrel, 2008**). Cette bactérie est commensale de la flore digestive des animaux. Elle est massivement excrétée dans les fèces et dans l'environnement. Lors de mammites bovines, les bactéries isolées ne sont pas considérées comme un groupe pathogène spécifique mais semblent provenir de la flore digestive et de l'environnement (**Richards et al, 2015**). Ces bactéries sont donc des agents pathogènes opportunistes, peu adaptés à la glande mammaire mais qui ont la capacité de s'y multiplier.

4.2.2 Facteur liée à l'hôte

4.2.2.1 L'Age et numéro de lactation

L'incidence des mammites est positivement corrélée avec l'âge et avec de lactations (**Seegers, 1997**). 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. 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**). Cet accroissement de sensibilité 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**).

4.2.2.2 Stade de lactation

La plupart des nouvelles infections ont lieu pendant les trois premiers mois de lactation. Le taux de nouvelles infections mammaires dues aux coliformes est plus élevé lors de la période sèche et autour de vêlage que pendant la lactation (**Smith et al., 1985**). La période où le taux d'infection par les coliformes est le plus élevé s'étend de la deuxième semaine après le tarissement à la deuxième semaine précédant le vêlage (**Smith et Hogan, 2008**). Les infections à *E. coli* présentent au vêlage ou au début de la lactation sont le plus souvent initiées durant cette période (**Tchassou, 2009**). (**Smith et al., 1985**), Il a été démontré que 65%

des cas de mammites cliniques, dues à un coliforme et apparaissant dans les deux premiers mois de la lactation, sont la conséquence d'une infection contractée durant le tarissement.

4.2.3 Facteur liée à l'environnement

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 contamination des mamelles par les germes d'environnement se fait principalement lors du couchage sur des litières souillées (contact entre les trayons et un milieu contaminé). Ainsi, une litière sale et peu abondante constitue un milieu de choix pour la prolifération des bactéries. Le niveau de contamination des litières représente le facteur d'infection par les micro-organismes de l'environnement à maîtriser. le taux de mammites cliniques et nombre de bactérie sur les trayons est positivement corrélée au nombre de bactéries à Gram négatif dans la litière (**Smith et Hogan, 2008**). Ce niveau de contamination des litières n'est pas lié à l'état de propreté optique des litières mais plutôt aux conditions d'ambiance. Une humidité ambiante élevée, lors de mauvaises conceptions du bâtiment et de défauts de ventilation, accélère la prolifération bactérienne. Ainsi, une élévation de température est associée à une charge bactérienne accrue des surfaces de couche. De fait, une augmentation estivale des entérobactéries est constatée (**Ward et al., 2002, Morin, 2009**).

5 Impact des mammites à *E coli*

5.1 Impact économique

Les mammites correspondent à l'affection la plus coûteuse en élevage bovin laitier. La mammite est la principale cause de pertes économiques dans les élevages laitiers (1^{er} rang des affections bovines en termes d'impact économique), à cause de la perte de production au niveau des quartiers infectés, des traitements vétérinaires, le surcroît de travail de l'éleveur, et le tarissement prématuré (**Van soest et al., 2016, shinozika et al., 2019**).

5.2 Impact sur la santé humaine

Les mammites représentent des affections fréquentes en l'élevage laitier, certaines bactérie pathogènes ou leur toxines sont présent dans le lait de la vache atteinte de mammite peuvent présenté un danger pour la santé humaine (**Mirinda et al., 2019**). Le risque zoonotique lié à la contamination du lait par certains germes fait l'objet de préoccupations de

santé publique (Seegers *et al.*, 1995). En effet, le lait « mammitieux » peut être vecteur d'agents responsables de toxi-infections alimentaires (salmonellose, listériose, etc.) (Poutrel, 1985). Par ailleurs, la présence des bactéries dans le lait comme *E. coli*, des staphylocoques, *Listeria* ou salmonelles représente un danger pour le consommateur surtout en absence de la pasteurisation (Seegers *et al.* 1997).

5.3 Impact technologique lors des mammites

La persistance des antibiotiques dans le lait après le traitement des mammites provoquent une inhibition de la flore lactique entraînant un mauvais égouttage et la prolifération de la flore colibacillaire et les moisissures (Tchassou, 2009). Ainsi, les infections mammaires ont aussi des conséquences sur la transformation fromagère, car elle conduit à une modification de la composition du lait dont les valeurs alimentaire et technologique sont réduites. D'autre part, la composition chimique du lait est également modifiée avec notamment une augmentation des protéines solubles et une diminution du lactose, des caséines et des matières grasses (Serieys, 1985 ; Ogola *et al.*, 2007).

6 Diagnostic des mammites subcliniques en élevage bovin laitier

6.1 Le Comptage Cellulaire Somatique Individuelle (CCSI)

Le Comptage Cellulaire Somatique Individuelle correspond à la moyenne des taux cellulaires somatiques (cellules épithéliales mammaires, macrophages, PNN et lymphocytes) présentes dans le lait de mélange des quatre quartiers d'une vache. Les laboratoires reconnus procèdent à l'analyse par Fossomatic[®], une technique de cyrtométrie en flux. Un agent intercalant, le bromure d'éthidium, est ajouté à l'échantillon de lait qui est ensuite soumis à une longueur d'onde comprise entre 450 et 530 nm. Les noyaux des cellules du lait deviennent alors fluorescents, ce qui permet leur comptage. Ce procédé automatisé permet l'analyse de 500 échantillons/heure. Ce type de mesure a un inconvénient majeur : la dilution des cellules somatiques. En effet, un CCSI élevé permet de conclure à une probable infection mais un CCSI bas ne permet pas d'exclure une infection (Durel *et al.*, 2003 ; Noireterre, 2006 ; Pezon et Gremy, 2015).

6.2 Le Taux Cellulaire du Tank (TCT)

La mesure du Taux Cellulaire du Tank (TCT) donne le niveau d'infection du troupeau et est important pour détecter un problème de mammites sub-cliniques dans le troupeau. Il

correspond en quelque sorte à une moyenne des CCSI des vaches du troupeau. Il se détermine à partir d'un échantillon de lait prélevé directement à la sortie du tank (**Noireterre, 2006**).

Enfin le taux cellulaire de tank est très important pour l'éleveur puisqu'il donne à l'éleveur une idée du nombre de quartiers infectés dans son troupeau. Suite aux résultats de TCT, l'éleveur peut décider d'une recherche plus approfondie par l'intermédiaire des CCSI (Concentrations Cellulaires Somatiques Individuelles), qui lui permettront de repérer les vaches en situation de mammites subcliniques et d'envisager des mesures correctives (**Noireterre, 2006 ; Remy, 2010**).

6.3 Le Californian Mastitis Test (CMT)

Le CMT est un test très simple, facile, réalisable au chevet de l'animal et peu onéreux. Il permet d'évaluer semi-quantitativement les cellules somatiques présentes dans le lait contrairement au TCT et aux CCSI. Le test CMT est également appelé test au teepol® ou Leucocyttest. Il permet de détecter les mammites subcliniques et d'identifier le(s) quartier(s) atteint(s) lors d'une augmentation de la concentration en cellules somatiques (**Dudouet, 2004 ; Salat, 2014**). Pour réaliser le CMT, il faut d'abord éliminer les premiers jets. Dans un plateau possédant quatre coupelles, il faut recueillir environ 2 ml de lait de chaque quartier puis ajouter l'équivalent du réactif. Ce réactif est composé d'un détergent (solution de Teepol à 10%) et d'un colorant (le pourpre de bromocrésol). Lors du mélange lait/réactif, les noyaux cellulaires éclatent et il y a une floculation de l'ADN, ce qui est à l'origine d'une augmentation de la viscosité. Ainsi, plus il y a de cellules somatiques dans le lait (polynucléaires neutrophiles et macrophages en cas d'infection), plus le mélange sera épais et visqueux. Il y a une forte corrélation entre les résultats de ce test et les comptages cellulaires réalisés en laboratoire. Le changement de couleur indique une variation du pH du lait et donc le degré d'inflammation. Par contre, ce test ne peut pas être réalisé lors des 3 à 4 premiers jours de lactation car il y a une émission massive de cellules épithéliales dans le colostrum, plus particulièrement chez les primipares, ce qui nuit à l'appréciation du test. De plus, en cours de lactation, un résultat négatif ou faible n'exclut pas une infection (**Serieys, 1985 ; Durel et al., 2003**).

6.4 Mesure de la conductivité électrique du lait

Lors de la traite, la conductivité du lait de vache est mesurée pour détecter une possible inflammation des mamelles (mammites) qui rend le lait impropre à la consommation. Lorsque

la mamelle est infectée, la perméabilité des capillaires sanguins augmente du fait de l'inflammation. Ce phénomène fait varier la proportion des ions entre les compartiments et modifie donc la conductivité électrique (CE) du lait. La conductivité du lait dépend essentiellement des ions sodium (Na⁺), potassium (K⁺) et chlorure (Cl⁻) (une augmentation remarquable de leur concentration). À l'état physiologique, le lait est plus concentré en K⁺ et lactose qu'en Na⁺ et Cl⁻, alors que le sang et les liquides extracellulaires sont plus concentrés en Na⁺ et Cl⁻ qu'en K⁺ et lactose (**Jacquinet, 2009**). Dans le cas d'une infection et d'une inflammation du quartier, les jonctions intercellulaires sont plus lâches et la perméabilité capillaire est augmentée. Ces phénomènes sont à l'origine de l'augmentation des concentrations en ions Na⁺, Cl⁻ et une diminution de la concentration en ions K⁺ dans le lait. Ceci a pour effet d'augmenter la conductivité du lait. Il existe actuellement des appareils portatifs de mesure de la conductivité du lait. Cette méthode est aussi le moyen de détection des mammites le plus répandu dans les équipements de traite (**Durel et Poutrel, 2006 ; Gourreau et al., 2009**).

7 Traitement et mesures préventives

7.1 Traitement antibiotique

Lorsque les mesures de prévention n'ont pas suffi et qu'une vache présente une mammite clinique ou subclinique. Les mammites subcliniques ne présentent pas de danger pour la vie de la vache ni une potentielle perte de fonction de la glande mammaire. Le recours à un traitement par antibiotiques est généralement préconisé. Le traitement des mammites subclinique se fait généralement au moment du tarissement car on peut profiter de la période sèche pour utiliser des spécialités de longue durée d'action. En effet, les bactéries sont généralement installées depuis longtemps dans le quartier malade et sont difficiles à éliminer. Il y a encore quelques années, seules les mammites cliniques étaient traitées en lactation. Il fallait donc attendre le tarissement pour pouvoir traiter les mammites subcliniques. On observe de nos jours une évolution de ces pratiques avec des antibiothérapies destinées à traiter des mammites subcliniques en pleine lactation. En outre, certaines bactéries comme *Staphylococcus aureus*, sont très contagieuses et se transmettent rapidement à tout le troupeau laitier ; c'est pourquoi, certains éleveurs soucieux de l'état sanitaire global de leur cheptel, préfèrent enrayer l'infection dès son début (**Giguere et al., 2013**). Le traitement au tarissement a plusieurs avantages par rapport au traitement en lactation. La dose d'antibiotique est plus élevée et la concentration est maintenue dans la mamelle (absence de traite) (**Royster et Wagner, 2015**).

Pour le traitement des mammites subcliniques à *E. coli*, l'usage d'antibiotiques par voie intra-mammaire ou par voie systémique peut s'avérer inutile. Souvent, la guérison est spontanée et l'infection est de courte durée (**Smith et al., 1985, Morin, 2009**). Ainsi, la question de l'utilité du traitement antibiotique est effectivement posée. La guérison bactériologique lors de mammites à *E. coli* est estimée à 90% en l'absence d'administration antibiotique grâce à une réponse inflammatoire et immunitaire, qui est dans la majorité des cas, efficaces et suffisants.

Les principales molécules utilisées en première intention appartiennent à la famille des Pénicillines A comme l'amoxicilline ou l'ampicilline (**Bergonier, 2014**). Toutefois, le choix de l'oxytétracycline, des triméthoprime-sulfaméthoxazole peut être judicieux pour traiter les vaches atteintes d'une mammite colibacillaire (**Wagner et Erksine 2006**).

L'utilisation de macrolides par voie générale et de β -lactamines par voie intra-mammaire donnent de bons résultats. Selon une étude, les taux de guérison atteignent 70 à 90%. Une baisse progressive des CCS doit ainsi être observée durant les mois suivants le traitement. Les animaux ne répondant pas au traitement doivent être séparés ou alors être réformés (**Durel et al., 2003**).

7.2 Résistance aux antibiotiques

L'antibiorésistance est au cœur des préoccupations actuelles de santé publique, en médecine vétérinaire comme en médecine humaine. L'augmentation des résistances aux antibiotiques de dernière génération peut expliquer cette prise de conscience (**Méheust et al., 2016**). L'antibiorésistance désigne l'ensemble des mécanismes d'adaptation utilisés par les bactéries pour échapper aux antibiotiques. En pratique, elle se traduit par une infection qui ne répondra pas à un traitement pourtant adapté (**D'Costa et al., 2011 ; Arquembourg, 2017, Savic, 2018**).

7.3 Différents types de résistance

7.3.1 La résistance naturelle

La résistance bactérienne naturelle, innée ou intrinsèque est programmée sur le génome (essentiellement chromosomique) et constant à l'intérieur du taxon. Ces souches peuvent très bien n'avoir jamais été en contact avec l'antibiotique en question. La résistance est donc liée aux propriétés naturelles des bactéries (**Vittecoq et al. 2016**). Elle peut être due à des

particularités structurales s'opposant à l'action de l'antibiotique sur sa cible. La résistance naturelle peut être médiée par l'expression constitutive ou induite d'une enzyme d'inactivation ou par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis à vis de l'antibiotique à savoir un manque d'affinité du composé pour la cible bactérienne, une inaccessibilité de la molécule à la cellule bactérienne, une expulsion de l'antibiotique par des pompes à efflux chromosomiques et une inactivation enzymatique innée de l'antibiotique (**Patrice, 2007 ,Hollenbeck, 2012, Muylaert et Mainil, 2012**).

La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire. Elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce et est commune à toutes les bactéries d'une même espèce (**Sabtu et al., 2015**).

7.3.2 La résistance acquise

La résistance acquise est consécutive à des modifications de l'équipement génétique. La résistance acquise entraîne la résistance à un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était sensible auparavant (**Buard 2013 Sabtu et al., 2015**). Elle se définit comme une caractéristique propre à quelques souches bactériennes d'un genre ou d'une espèce particulière provoquant l'émergence et la diffusion de résistances au sein de populations de germes normalement sensibles. Deux phénomènes majeurs à la base de l'acquisition de résistances par modifications du génome bactérien ont été décrits. Il s'agit des mutations responsables des résistances endogènes, et l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger responsable des résistances exogènes. De plus certaines résistances résultent de l'association d'une mutation et d'un transfert horizontal de gène (**Guardabassi et Courvalin, 2006, Guillemot et al., 2006, Martínez et Baquero, 2014**).

7.3.3 Mécanismes de résistance

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des antibiotiques. Une souche bactérienne peut avoir une résistance naturelle ou acquise. Cette dernière se produit lorsqu'une modification de son capital génétique lui permet de tolérer des concentrations d'antibiotiques plus élevées que celles qui inhibent la croissance in vitro de la majorité des souches de la même espèce dite sensible. Les mécanismes de résistance sont nombreux et les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la réduction de la perméabilité membranaire de la molécule. D'autres mécanismes tels que la

protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique ont été également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés (**Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Zaffiri et al., 2012 ; Muylaert et Mainil, 2012**).

La réduction de la perméabilité de la cellule bactérienne peut être due à une diminution de la perméabilité de la membrane externe, notamment par régulation des transporteurs, ou de celle de la membrane cellulaire, en agissant aussi sur les transporteurs. On peut également citer les transporteurs actifs qui peuvent créer un efflux d'antibiotiques dans le périplasme ou directement dans le milieu extracellulaire. Une modification de l'agent antimicrobien par des enzymes bactériennes peut également avoir lieu après sa pénétration dans la cellule, dans le périplasme ou même lorsqu'il est encore dans le milieu extracellulaire. Enfin, les modifications de récepteurs sur la paroi bactérienne ont été décrites, aussi bien sur les bactéries extracellulaires qu'intracellulaires. Ces mécanismes de résistance sont variables selon les familles d'antibiotiques (**Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Muylaert et Mainil, 2012 Giguère et al., 2013; Vranakis et al., 2014**).

7.3.4 Résistance d'*E. Coli* aux antibiotiques

Afin de bien contrôler la mammite bovine et d'éviter les problèmes associés avec la résistance aux antibiotiques et l'échec du traitement, il est important de connaître certaines caractéristiques de l'antibiorésistance des agents pathogènes en cause. Plusieurs études démontrent des résultats concernant la surveillance de l'antibiorésistance des *E. coli*. Les résultats diffèrent selon les auteurs et les pays car, bien entendu, les isolats d'*E. coli* sont différents d'une étude à l'autre.

L'étude menée par Suojala et son équipe en Finlande sur 154 isolats d'*E. coli* provenant de 65 fermes laitières a pu démontrer que les antibiotiques pour lesquels de la résistance était plus souvent détectée étaient l'ampicilline (18,6 %), la streptomycine (16,4 %), la tétracycline (15,7 %) et le sulfaméthoxazole (13,6 %). De plus, pour cette étude, aucune résistance n'a été détectée pour la gentamicine, le florfenicol et pour le ceftiofur (**Suojala et al., 2011**). De plus, Suojala et son équipe a montré que 27,8% et 20,1% des *E. coli* sont résistants respectivement à au moins un, voire deux antibiotiques.

Une autre étude aux Etats-Unis rapportait des résultats d'antibiorésistance pour un suivi de 10 antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire pour 129 *E. coli* isolés de cas de

mammite bovine. La plupart des *E. coli* (98,4 %) étaient résistants à l'ampicilline et plusieurs étaient résistants à la streptomycine (40,3 %), au sulfisoxazole (34,1 %) et à la tétracycline (24,8 %) (**Srinivasan et al., 2007**). Au Canada, une étude nationale a récemment eu lieu pour des isolats d'*E. coli* issus du programme de prélèvement du Réseau Canadien de Recherche sur la Mammite Bovine (subcliniques ou cliniques). Les concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées pour 394 isolats provenant de 394 quartiers de 353 vaches sur 76 fermes laitières. La plupart des valeurs des CMI étaient sous le seuil de la résistance. Les proportions de résistance variaient de 0 pour le ceftriaxone et le ciprofloxacine à 14,8 % pour la tétracycline. La proportion de résistance était de 9,2 % pour le sulfisoxazole, de 8,7 % pour la streptomycine et de 8,2 % pour l'ampicilline (**Saini et al., 2012**). Ainsi, l'équipe de **Saina et al.**, a démontré que 4% des isolats étaient résistants à au moins un antibiotique. De plus, le pourcentage de résistance diffère d'une province à l'autre. Par exemple, 23,6% des *E. coli* sont résistants aux tétracyclines dans la province de l'Alberta contre 9,5% en Ontario, et 10,4% au Québec.

8 Prophylaxie

8.1 Prophylaxie médicale

La lutte contre les mammites subcliniques passe avant tout par la mise en place de mesures de prévention efficaces. La prophylaxie des infections mammaires est basée sur l'ensemble des moyens permettant, d'une part, de diminuer la fréquence des nouvelles infections et, d'autre part, de réduire la durée des infections existantes. Ainsi, tout principe de prévention sera axé sur le diagnostic continu à l'échelle du troupeau, une hygiène de la traite, le traitement des animaux au tarissement et la réforme des animaux incurables (**Durel et al., 2003**).

Le développement de vaccins pour protéger les vaches des infections intra-mammaires est à l'étude depuis plusieurs années. A cause de la grande diversité d'agents pathogènes, le développement d'un vaccin actif sur la plupart des mammites représente une difficulté majeure. Les vaccins actuellement commercialisés montrent des résultats prometteurs, en particulier grâce à l'utilisation des protéines recombinantes.

La vaccination semble être une avenue intéressante pour la prévention des mammites à coliformes. Les vaccins déjà existants engendrent une réponse face aux antigènes « core LPS ». L'immunité acquise n'empêche pas l'infection intramammaire, mais réduit la sévérité des

signes cliniques rencontrés, réduire le nombre de cas et baisser les CCSI (**Srivastava et al., 2015 ; Ruegg, 2017**). En Amérique du Nord deux vaccins sont commercialisés : J-Vac (Merial, merial.com) et J-5 *Escherichia coli* Bacterin (Zoetis, zoetis.com). Actuellement En Europe, il y a plusieurs types de vaccin par exemple le Starvac® du laboratoire Hipra. Ce vaccin est composé de deux valences : l'une est constituée d'une souche d'*E. coli*, et l'autre d'une souche de *S. aureus* (**Morin, 2009, Gogoi-Tiwari et al., 2015 ; Ruegg, 2017**).

8.2 Prophylaxie sanitaire

Les mesures prophylactiques concernent l'élimination des réservoirs et le contrôle de la transmission des germes et contrôle de la réceptivité et de la sensibilité de la mamelle. En fonction de la souche identifiée et de l'origine de la contamination, les mesures de prévention seront différentes. *E. coli* étant présente dans l'environnement d'élevage, l'hygiène au moment de la traite est importante dans la mesure où elle permet l'élimination des souillures qui sont la source des contaminations mammaires. Quelques mesures simples doivent systématiquement être appliquées dans les élevages afin de limiter les risques de contaminations :

✓ Bonnes conditions de traite

La santé de la mamelle peut être préservée simplement par de bons réglages sur la machine de traite. De bons paramètres de traite et une bonne maintenance de la machine de traire diminuent le risque des infections mammaires. De plus, une bonne routine de traite, avec de bonnes pratiques d'hygiène, participe au maintien de la santé de la mamelle (**Contreras et al. 2007**).

✓ Contrôle des sources et de la transmission

Afin d'identifier au plus tôt les signes de mammites subcliniques, des dépistages sont à réaliser régulièrement dans les élevages. les tests simples comme le CMT ou des résultats de comptages de cellules somatiques individuels permettent de trier les animaux à mammites subcliniques.

✓ **Hygiène du trayeur**

Le trayeur est une source possible de contamination de la mamelle. Pour éviter la transmission de micro-organismes, le manipulateur doit avoir les mains propres et éventuellement porter des gants.

✓ **Pré-trempage et post-trempage**

Le pré-trempage et le post-trempage consistent en la désinfection des trayons avant et après la traite. Le nettoyage de la mamelle avant la traite peut être réalisée à l'aide de lavettes individualisées ou une douchette. Ensuite l'étape de pré-trempage a pour objectif de désinfecter et de prévenir de nouvelles infections dues aux bactéries environnementales qui colonisent les trayons entre les traites (**Bergonier, 2014**). Les bactéries coliformes ne sont pas tolérantes ou résistantes aux désinfectants actuellement utilisés dans ce cadre. Concernant le trempage après la traite ou post-trempage, il est surtout actif sur les germes contagieux responsables des mammites dites de traite, mais il n'est pas efficace sur les germes environnementaux (**Fagundes et al, 2012**). En effet, ces produits germicides sont capables de détruire les bactéries coliformes mais leur efficacité reste de courte durée.



PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE



OBJECTIFS ET METHODOLOGIE

1 Objectifs de l'étude

Les mammites subcliniques sont un véritable fléau dans nos élevages bovins laitiers, ils représentent une entrave à la production au niveau des élevages spécialisés dans la production laitière. Les pratiques d'élevages favorisent malheureusement l'entretien et la persistance des bactéries responsables des mammites dans les élevages. Dans la région d'Ain-Temouchent, très peu d'études ont été menées sur les mammites subcliniques. L'objectif général visé dans ce travail est de faire l'inventaire des principales facteurs impliquées dans les mammites au niveau des élevages de la wilaya d'Ain-Temouchent et de procéder à la prévalence des mammites subclinique due aux *Escherichia coli*, afin de proposer une stratégie efficace de prévention et de contrôle.

Les objectifs spécifiques assignés à cette étude sont :

- 5) Étudier la prévalence mammites subcliniques dans quelque élevage bovin laitier par un test CMT (Californian Mastitis Test) dans la wilaya d'Ain-Temouchent
- 6) Déterminer la prévalence des mammites subclinique due aux *Escherichia coli*
- 7) Détermination du profil de résistance et de sensibilité de ces bactéries vis-à-vis des antibiotiques utilisés en routine dans la thérapeutique vétérinaire.
- 8) Et, enfin, évaluer l'impact de l'application des mesures d'hygiène sur la prévalence des mammites

2 Présentation de la de la région d'étude

Notre étude a été effectuée au Nord-ouest Algérien, il s'agit de wilaya d'Ain Témouchent. La wilaya d'Ain Témouchent occupe une position stratégique dans l'ouest de l'Algérie. Issue du découpage administratif de 1984, elle s'étend sur une superficie de 2377 km² et abrite une population de 378,546 habitants. Elle est située en Oranie, et limitée à l'est par la wilaya d'Oran, au sud-est par la wilaya de Sidi-Bel-Abbès, au sud-ouest par celle de Tlemcen, et au nord-ouest par la mer Méditerranée qui la borde sur une distance de 80 km environ. Elle est composée de 8 Daïras et 28 communes (DSA d'Ain Témouchent, 2021) (Figure 1).

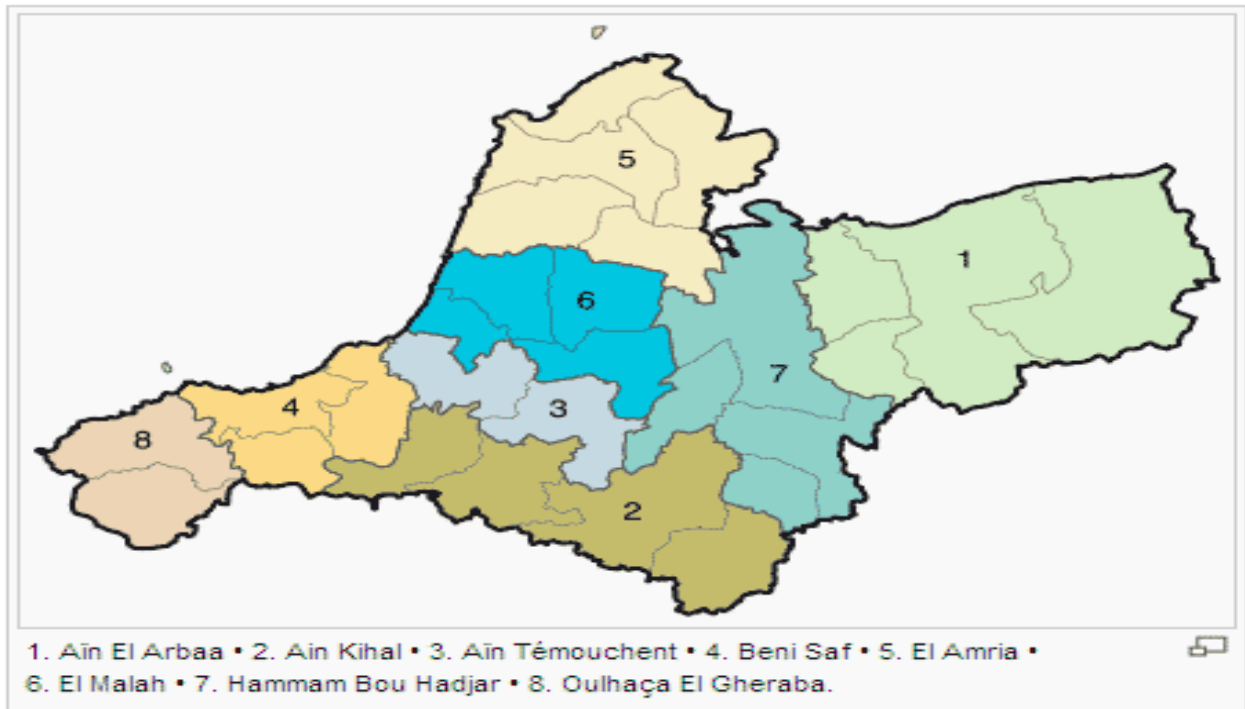


Figure 1: Situation géographique de la wilaya d'Ain Témouchent

3 Échantillonnage et la collecte des informations

Les échantillons sont prélevés à partir des vaches qui ne présentent aucun signe d'inflammation. Les informations ont été recueillies sur des fiches d'enquête sous forme de questionnaires renseignant sur l'identification de la ferme, la structure du troupeau, la pratique de la traite, l'alimentation et le suivi sanitaire des animaux. Une fiche de prélèvement a permis de recueillir des informations spécifiques aux animaux prélevés, à savoir le stade et le rang de lactation.

4 Dépistage des mammites subcliniques

Le California Mastitis Test (CMT) est également appelé test au teepol® ou Leucocyttest. Bien qu'ayant une sensibilité et une spécificité variables, ce test est répandu car peu coûteux, rapide et faisable au chevet de l'animal (Srivastava et al., 2015). Il permet le dépistage rapide des mammites subcliniques.

4.1 Principe et technique de réalisation

Le CMT est basé sur l'emploi d'un détergent tensioactif (solution de Teepol à 10 %) et d'un indicateur coloré (pourpre de bromocrésol) sur le lait. Ce réactif tensioactif provoque la

lyse des cellules présentes dans le lait par la destruction des parois et la libération de l'ADN formant ainsi un réseau qui emprisonne les globules gras et autres particules. Ce qui a pour effet d'augmenter la viscosité du lait, voire de provoquer un flocculat dont l'importance et la consistance sont fonction de la teneur en cellules de l'échantillon de lait. L'indicateur coloré change de couleur comme dans le test avec un papier pH.

Chez les vaches en phase lactation, une fois le pis est nettoyé d'une manière grossière, c'est selon les procédures données par **Quin et al. (1994)**, que le diagnostic de la mammites subclinique par le California Mastitis Test (CMT) a été réalisé. En pratique, pour chaque trayon, une fois les premiers jets de lait éliminés, une quantité suffisante du lait (2ml) est traitée dans la coupelle correspondante de la palette de CMT, auxquelles une quantité égale du réactif de CMT (2 ml de réactif RAIDEX) est rajoutée. Ainsi, un doux mouvement circulaire dans un plan horizontal est assujéti à la palette pendant quelques secondes. Le résultat de la réaction marque le niveau de destruction des cellules somatiques et de coagulation des acides nucléiques. De ce fait, la positivité est fonction de degré de formation de gel pouvant aller de +1 à +3 alors que, la négativité est l'aboutissement d'un mélange inchangé. Une vache est considérée atteinte d'une infection intra mammaire si elle présente au minimum un quartier positif au CMT même en l'absence d'isolement de micro-organisme (figure 2).



Figure 2: Technique de réalisation du Californian Mastitis Test (CMT).

4.2 Lecture et interprétation

La lecture et l'interprétation du CMT se font en référence au tableau de lecture (tableau 2).

Tableau 2: Interprétation du Leucocyttest selon les indications accompagnant le réactif

Lecture			Interprétation	
Aspect	Score		Infection	Relation avec la numération cellulaire moyenne (x 10 ³ ml)
	Valeur	croix		
Consistance normale	0	(0)	absente	0-200
Léger gel disparaissant après agitation	1	(±)	Risque d'infection par pathogène mineur	150-500
Léger gel persistant, filament grumeleux	2	(+)	Mammite subclinique	500-1500
Epaississement immédiat, amas visqueux au fond de la coupelle	3	(++)	Mammite subclinique	800-5000
Gel épais, consistance du blanc d'œuf	4	(+++)	Mammite subclinique à la limite de l'expression clinique	Plus de 5000

5 Prélèvements et analyse microbiologique

5.1 Prélèvement des échantillons de lait

La qualité de l'examen bactériologique des laits de mammites dépend en grande partie de la qualité du prélèvement et de la technique de l'opérateur. Les vaches en lactation choisies ont été soumises à un CMT individuel par quartier en début de traite. Tout quartier présentant un score au CMT supérieur ou égal à 2 a fait l'objet de prélèvement pour les analyses bactériologiques. Les prélèvements de lait sont effectués dans des conditions aussi proches que possible de l'asepsie. Les prélèvements de lait ont été collectés, avant la traite du matin, selon les instructions de National Mastitis Council (NMC, 1990).

Afin de limiter tout biais lié à la technique de prélèvement, chaque quartier révélé préalablement atteint d'une mammites subcliniques, a été lavé par de l'eau de robinet puis séché par des lavettes uniques jetables. Après avoir lavé et séché soigneusement nos mains, des gants jetables ont été enfilés. une désinfection soigneuse de l'extrémité des trayons à l'aide d'un tampon de coton imbibé d'alcool à 70° en commençant par les trayons

les plus éloignés [lorsque la vache est abordée à droite, la désinfection des trayons est réalisée dans l'ordre, quartier postérieur gauche (QPG), quartier antérieur gauche (QAG), quartier postérieur droit (QPD) et quartier antérieur droit (QAD)].

Les prélèvements ont été réalisés dans des tubes stériles de 20 ml, suivant la technique décrite par Diernoffer cité par **Dupont (1980)**, c'est-à-dire dans l'ordre inverse de celui de la désinfection. En effet, on commence la désinfection par le quartier le plus éloigné pour aboutir au quartier le plus proche, alors que le prélèvement commence du quartier le plus proche vers le quartier le plus éloigné.

Les informations de l'animal et le quartier prélevé ont été mentionnées sur les tubes stériles avant chaque collecte d'échantillon de lait. Après élimination des premiers jets, le bouchon est ôté. Le couple, tube et bouchon ont alors leurs ouvertures dirigées vers le bas, et ce afin d'éviter toute contamination. Sitôt, le trayon saisi de la main droite, est ramené en position latérale pour être trait presque horizontalement dans le flacon à prélèvement. Ce dernier en position oblique au moment où le lait gicle, est porté entre le pouce et l'index de la main gauche avec un bouchon porté par l'index et le médium orienté vers le bas. Enfin, le flacon est rebouché avant redressement, puis placé immédiatement dans une glacière à 4°C et acheminés au laboratoire pour analyse microbiologique.



Figure 3: les échantillons du lait

6 Analyse microbiologique

L'étude bactériologique a été réalisée dans le laboratoire pédagogique de microbiologie de l'université d'Ain-Temouchent. Le travail a consisté à constituer des pools, à préparer les milieux de culture, à la mise en culture des prélèvements, à faire l'isolement et

l'identification des germes contenus dans les échantillons de lait et enfin à tester la sensibilité de quelques germes isolés vis-à-vis de quelques antibiotiques couramment utilisés.

6.1 Enrichissement

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



Figure 4: Réalisation de l'enrichissement

6.2 L'isolement

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

7 Identification des souches d'*Escherichia coli*

Les colonies caractéristiques obtenues sur les géloses EMB et gélose MacKonkey sont testé en vue de leur identification basée sur les caractères morphologiques (état frais, coloration de Gram) et caractères biochimiques.

7.1 Identification morphologique

7.1.1 Examen macroscopique

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. D'après **Joffin et Leyral, (2001)**, les éléments clés d'identifications macroscopiques sont : la forme (ronde, irrégulière), la surface (lisse, sèche), la taille, la couleur, l'opacité (la transparence, opaque), évaluation des colonies (concave, plat, la consistance, et pigmentation. Les colonies d'E coli sur milieu Eosin Methylene Blue Agar (EMB) apparaissent vertes avec un aspect brillant métallisé, en forme de bâtonnet, de taille moyenne. Les colonies d'*E coli* sur le milieu gélose MacConkey sont roses à rose foncé, sèches et en forme de beignet et sont entourées d'une zone rose foncé de sels biliaires précipités.

7.1.2 Examen microscopique

L'examen microscopique en bactériologie peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle (l'état frais) ou bien après la coloration de gram. Cet examen renseigne sur la présence de bactéries confirmant l'origine bactérienne d'une infection. L'examen microscopique est une étape clé dans la démarche diagnostique des infections bactériennes.

7.1.3 Examen direct à l'état frais

L'état frais est un examen de mise en œuvre très simple et qui a lieu au microscope optique à l'objectif x 40. Il permet d'apprécier la morphologie des bactéries, leur mode de regroupement, leur abondance et leur mobilité. Pour ce faire :

- ❖ nettoyer une lame puis déposer une goutte d'eau distillée
- ❖ prélever une colonie à l'aide d'une pipette pasteur stérile.
- ❖ homogénéiser la suspension bactérienne avec l'eau distillée en décrivant un mouvement circulaire.

- ❖ passer la lame dans la petite flamme du bec bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur puis refroidir la lame.

7.1.4 Test de la coloration de Gram

La coloration de Gram est un examen qui permet non seulement de voir la forme et le mode d'association des bactéries mais aussi de distinguer deux types de bactéries (les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif). Pour ce faire : un fragment de colonie bactérienne de 24 heures obtenu sur la gélose est prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur puis barboté dans une goutte d'eau distillée stérile sur une lame propre (lame nettoyé par alcool). Le frottis ainsi obtenu est fixé et séché par flambage à l'alcool, puis successivement traité au violet de gentiane (1 minute), au lugol (30 secondes), à alcool éthylique 70° et enfin à la fuchsine (15 secondes). Entre deux traitements le frottis est rincé à l'eau. La lame est séchée et observée au microscope à l'objectif x 100 après addition de l'huile à immersion.

7.2 Identification biochimique

Les tests biochimiques sont indispensables pour obtenir l'identification d'une bactérie. Les méthodes biochimiques reposent sur la recherche d'enzymes responsables de certaines réactions biochimiques, sur l'utilisation d'un substrat particulier ou la présence de produits spécifiques issus du métabolisme intermédiaire.

7.2.1 Gélose TSI (Triple Sugar Iron)

La gélose TSI est utilisée pour l'identification présomptive des *entérobactéries* basée sur la fermentation du glucose, du lactose, du saccharose et sur la production de gaz et d'H₂S. Pour réaliser ce test il consiste à ensemencer le culot des tubes à essai contenant le milieu incliné par piqûre (par pipette ou à l'aide d'une anse stérile) ensuite la pente du milieu en stries longitudinales. Les tubes sont incubés à 37 °C pendant 24 h. après le délai d'incubation, les modifications de milieu se traduisent de la façon suivante :

- ✓ Culture glucose positive : culot jaune (glucose fermenté).
- ✓ Culture glucose négative : culot inchangé .
- ✓ Culture lactose positive : pente virant au jaune
- ✓ Culture lactose négative : pente alcalinisée (rouge groseille).
- ✓ Culture saccharose positive : pente virant au jaune.
- ✓ Culture saccharose négative : pente alcalinisée.

- ✓ Culture H₂S positive : noircissement du milieu dans la zone joignant la pente et le culot. Production de gaz : bulle d'air, des bulles dans la masse du milieu ou contre les parois ou poche gazeuses décollant le culot.

7.2.2 Mannitol-mobilité

Ce test base sur le principe à mettre en évidence l'uréase, seules les bactéries à uréase suffisamment active donne une réaction positive, ceci est réalisé à partir d'une suspension bactérienne aussi dense que possible de la gélose nutritive dans 1ml du milieu urée-indole. Après incubation à 37°C pendant 24h. Pour la lecture des résultats

- ✓ Lecture : Uréase positive : virage de l'indicateur du jaune au rouge violacé ou au rose rouge.
- ✓ Uréase négative : pas de changement de coloration ou virage au rouge citron.
- ✓ Production d'indole : A partir de la gélose nutritive on a ensemencé des tubes d'eau peptonée exempt d'indole. Les tubes sont incubés à 37 °C pendant 24 h. Après incubation, la recherche de l'indole est effectuée par l'ajout de quelques gouttes de réactif de Kovacs. On agite et on laisse le réactif remonter en surface.

7.2.3 Test à l'ONPG (OrthoNitroPhényl β-D-Galactopyranoside)

Le Test à l'ONPG (OrthoNitroPhényl β-D-Galactopyranoside) permet la recherche de la β-galactosidase qui est une enzyme qui intervient dans le métabolisme du lactose. L'utilisation du lactose par la bactérie requiert deux enzymes : le lactose perméase qui permet au lactose de pénétrer dans la bactérie et la β-galactosidase qui catalyse l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose. La recherche de la β-galactosidase ne présente d'intérêt que pour les bactéries lactose négatif. L'ortho-nitro-phényl-galactoside (ONPG) incolore, de structure proche du lactose et capable de pénétrer dans la bactérie sans perméase est utilisé comme substrat synthétique. Si la bactérie possède la β-galactosidase, on obtient du galactose et de l'ortho-nitro-phénol (ONP) de couleur jaune. Une suspension de culture pure de 24 heures est préparée dans un tube stérile contenant 0,5 ml d'eau physiologique. Un disque ONPG est ajouté à la suspension, puis incubé à 37 °C pendant un temps variant entre 3 heures et 24 heures au maximum. La coloration de la suspension en jaune traduit présence β-galactosidase.

7.2.4 Test de catalase

Il s'agit de mettre en évidence la présence de cette enzyme dans les bactéries. Le test de mise en évidence de la production de la catalase est réalisé à l'aide du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). La catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène libre, réaction dans laquelle le peroxyde d'hydrogène agit comme donneur et accepteur d'électrons. Si une bactérie possède la catalase, un dégagement gazeux sous forme de bulles est produit. Ainsi, un fragment de la colonie bactérienne de 24 heures est prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et barboté dans une goutte d'eau oxygénée. La présence d'un dégagement gazeux sous forme de bulles traduit la production de la catalase par la bactérie.

8 Antibiogramme des souches *Escherichia coli* isolées

Après identification des différentes souches d'*Escherichia coli* responsables de mammites subcliniques, une recherche de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu solide selon la technique préconisée par le CLSI (**Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011**). La réalisation de l'antibiogramme a consisté à préparer l'inoculum bactérien, à l'ensemencer sur la gélose, à appliquer les disques d'antibiotique, à incuber les boîtes, à lire et à interpréter les résultats.

8.1 Préparation de l'inoculum bactérien

À partir d'une culture de 24 heures obtenue sur milieu d'isolement approprié, deux à trois colonies bactériennes bien isolées et parfaitement identiques ont été prélevées et émulsionnées dans 10 mL d'eau physiologique stérile à 0,9%. pour l'obtention d'une turbidité à l'échelle 0,5 de MacFarland équivalent à une concentration bactérienne d'environ 10^6 UFC/ml. La suspension ainsi obtenue a constitué l'inoculum bactérien.

8.2 Ensemencement, application des disques et incubation

Un écouvillon stérile est trempé dans l'inoculum bactérien, puis ensemencé sur toute la surface de la gélose Müller-Hinton, en stries serrées en pivotant chaque fois la boîte. Après l'ensemencement, les disques d'antibiotiques sont posés sur la surface de la gélose Müller-Hinton à l'aide d'un applicateur de disque. Deux disques sont éloignés au minimum de 30 mm de sorte à éviter des chevauchements des zones d'inhibition. Les boîtes sont ensuite laissées à la température ambiante ($25 \pm 2^\circ C$) sur la paille pendant environ 15 minutes afin

de permettre une pré-diffusion des antibiotiques. Avant d'être utilisés, un contrôle interne des disques d'antibiotiques a été effectué conformément aux recommandations du CA-SFM (2016) à l'aide de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922. Ce contrôle permet de s'assurer de la validité des résultats obtenus. Les boîtes ensemencées sont ensuite incubées à 37 °C pendant 24 heures (figure 5)



Figure 5: Incubation à 37°C pendant 24h

Les antibiotiques testés sont sélectionnés parmi les molécules actives actuellement sur les entérobactéries et ceux qui sont utilisés le plus couramment par les vétérinaires praticiens dans le traitement des mammites en lactation et / ou hors lactation (Tableau 3).

Tableau 3: Liste des antibiotiques utilisées et leurs charges respectives

Antibiotiques	Code	Charge du disque (µg)
Amoxicilline	AMX	25
Amoxicilline+ Acide clavulanique	AMC	20/10
Céfotaxime	CTX	30
Chloramphénicol	CHL	30
Kanamycine	K	30
Tétracycline	TE	30
Ofloxacin	OF	5
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	SXT	25µg
Colistine sulfate	CST	50
Streptomycine	S	10

8.3 Lecture et Interprétation des résultats

La mesure des diamètres d'inhibition est réalisée à l'aide d'un pied à coulisse. les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Petri fermée. Les valeurs des diamètres d'inhibition obtenues ont permis de classer les souches en :

Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistant (R) conformément aux recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**EUCAST/ CA-SFM, 2016**). Les souches à résistance intermédiaire (I) ont été catégorisées souches résistantes.



RESULTATS ET DISCUSSION

1 Résultats et discussion

1.1 Analyse descriptive des vaches laitières suivies

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

1.1.1 Répartition des vaches selon la parité

Notre étude porte sur l'analyse des données de 45 vaches primipares et de 75 de vaches multipares (Figure 6).

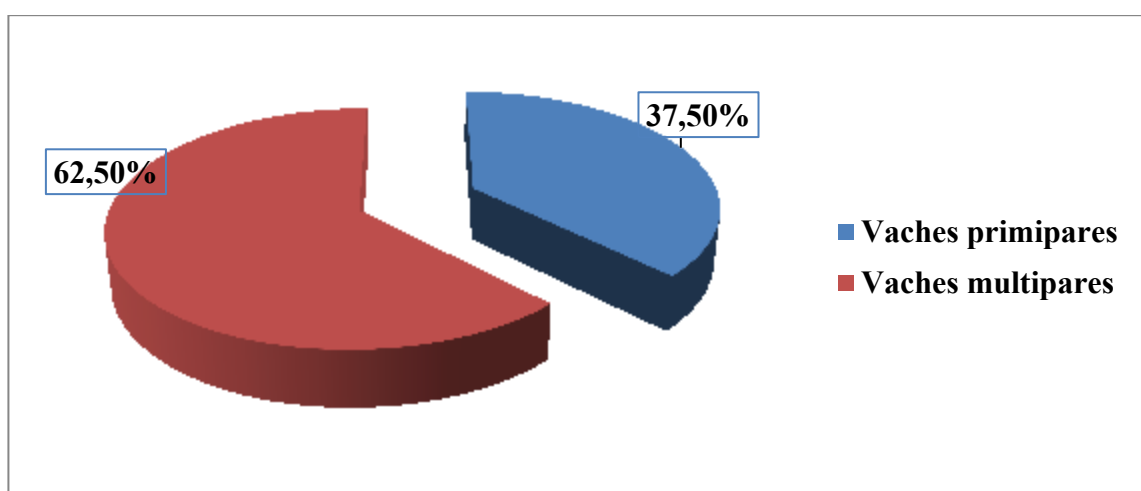


Figure 6: Répartition des vaches selon la parité

1.1.2 Répartition des vaches selon la race

Sur un total de 120 vaches examinées, la race Pie Noire Prim'Holstein constitue 75 % du vaches suivies avec 90 vaches et la Montbéliarde 25 % avec 30 vaches (figure 7).

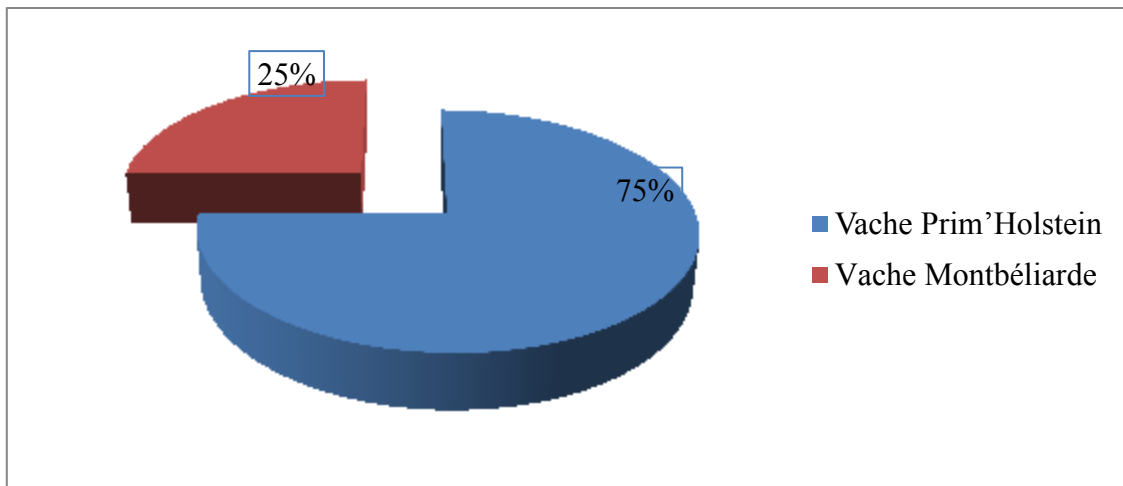


Figure 7: Répartition des vaches selon la race

1.1.3 Répartition des vaches selon le stade de lactation

Les stades de lactation a été devisé en trois stades : 1ere stade de lactation (moins de 3 mois), 2eme stade lactation (entre 3 et 6 mois), 3eme stade de lactation (supérieur à 6 mois). Notre étude porte a été effectuées sur 60 vaches en 1ere stade de lactation (50%), 35 vaches en 2eme stade lactation (29,16%) et 25 vaches en 3eme stade de lactation (20,83%) (Figure8).

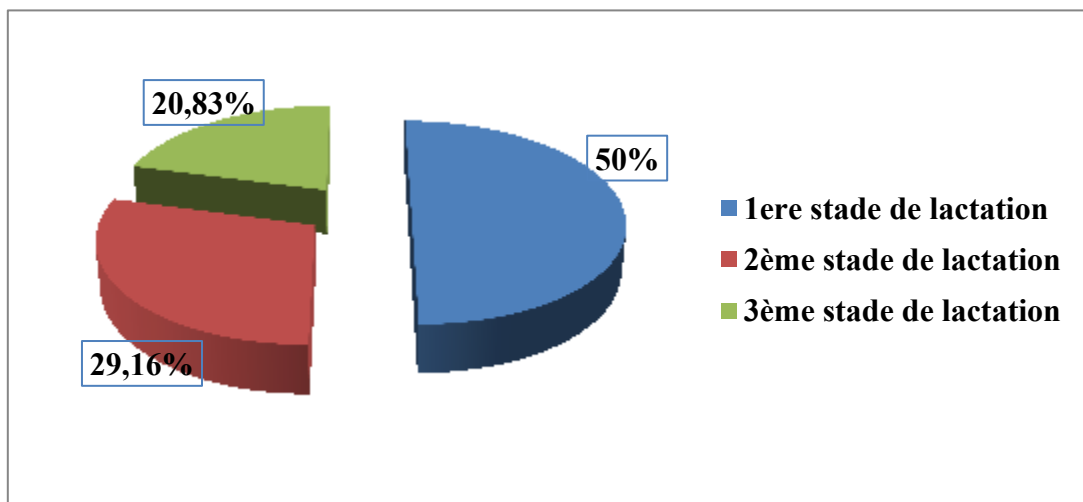


Figure 8: Répartition des vaches selon le stade de lactation

1.2 Résultats du CMT

Sur un total de 120 vaches examinées ; 39,16% ont donné des résultats de CMT positifs ($CMT \geq 2$) et 60,83% de négatifs ($CMT=0$) (Figure 9).

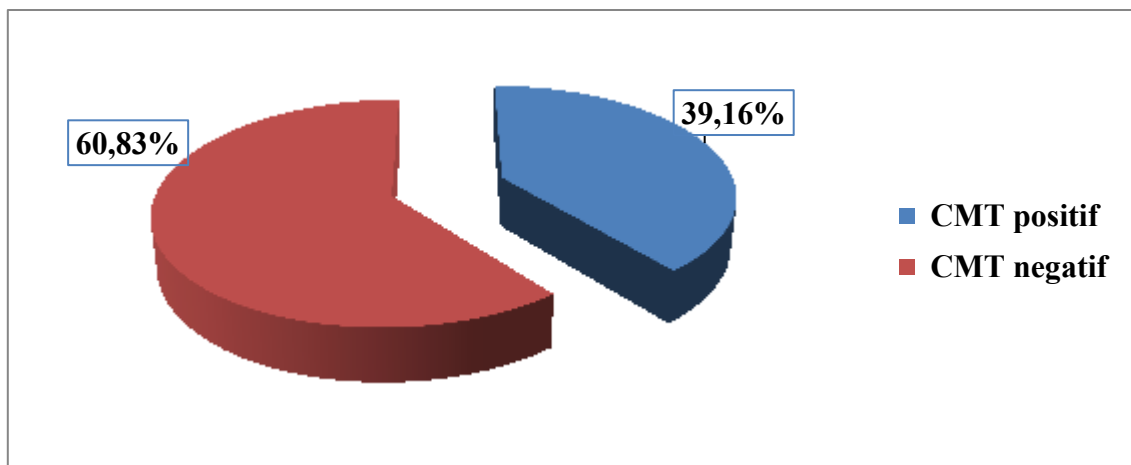


Figure 9: Résultats du CMT par rapport aux vaches examinées

1.2.1 Effet du stade de lactation sur les résultats du CMT

La figure ci-dessous (Figure 10) montre les variations de la prévalence des mammites subcliniques selon le stade de lactation. Au regard des résultats, on observe une prévalence élevée des mammites subcliniques pendant le 2^{ème} stade de lactation (42,85%), au contraire, elle est plus faible dans le début (38,33%) et la fin de lactation (36%).

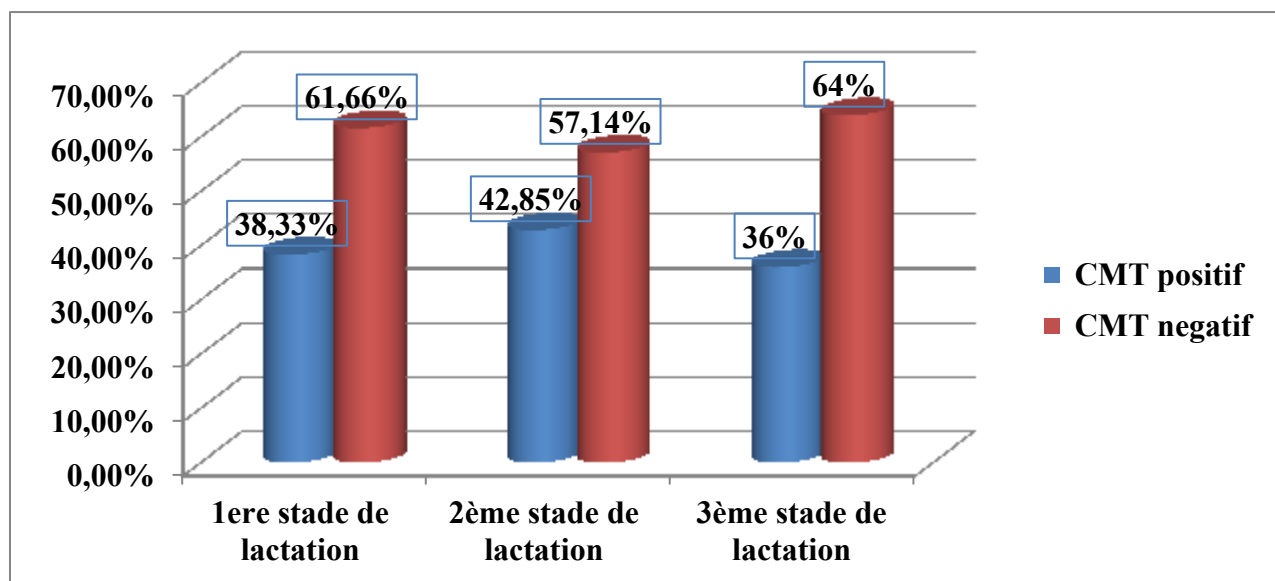


Figure 10: Effet du stade de lactation sur les résultats du CM

1.2.2 Effet du numéro de lactation sur les résultats du CMT

La répartition des mammites subcliniques due à l'*Escherichia coli* en fonction du stade de lactation est présentée dans la figure 11. En première lactation (primipares), il y a eu plus de vaches négatives au CMT (75.55%) que de vaches positives (24.44%). Le nombre de cas

positifs croît ensuite au fur et à mesure que le numéro de lactation augmente (48% pour les vaches en deuxième lactation et plus).

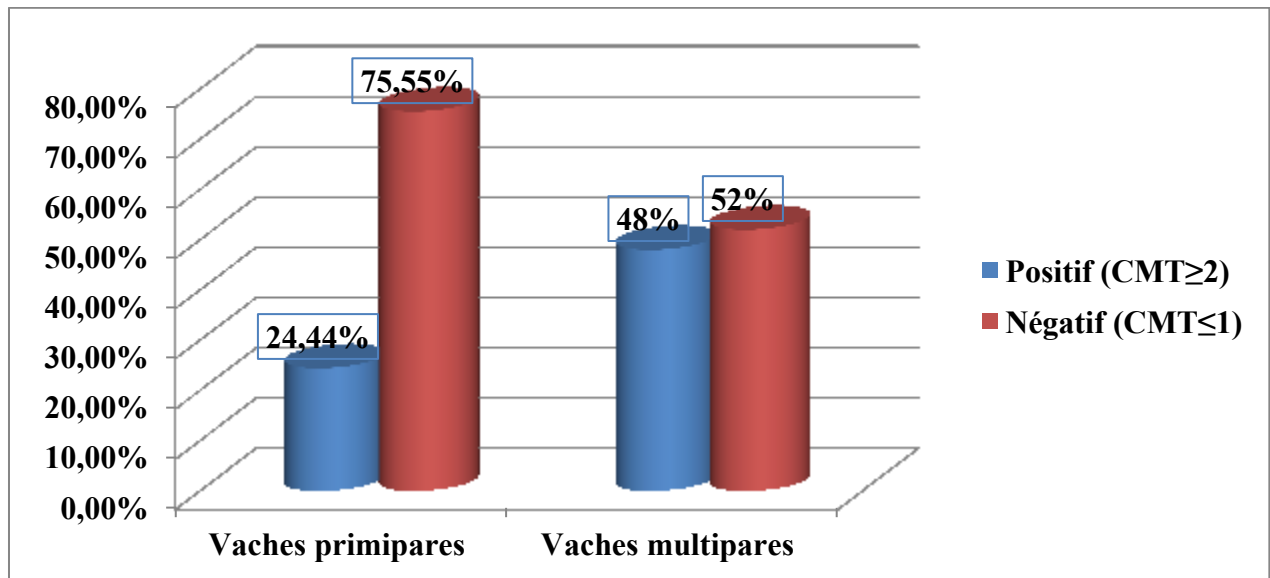


Figure 11: Effet du numéro de lactation sur les résultats du CMT

1.2.3 Effet de la race sur les résultats du CMT

La figure 12 représente la répartition des vaches atteintes par les mammites subcliniques selon la race. A la lumière des résultats mentionnés dans la figure ci-dessous, on observe que les vaches de race Prim'Holstein sont plus touchées (43,33%) par rapport aux vaches de race montbéliarde (26,66%).

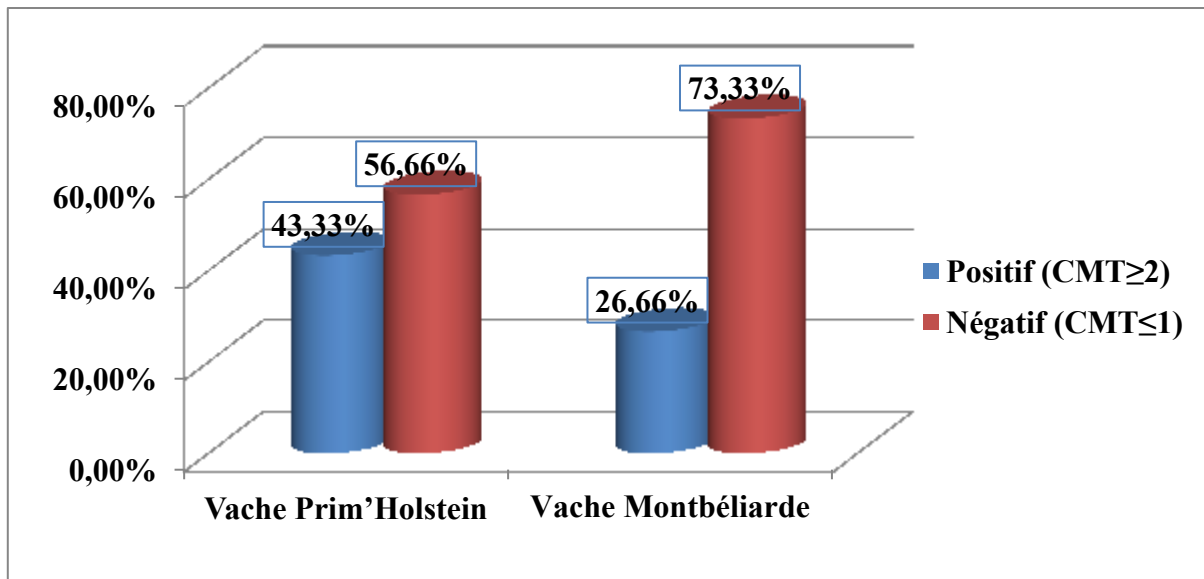


Figure 12: Effet de la race sur les résultats du CMT

1.3 Résultats de l'examen bactériologique

1.3.1 Prévalence d'*Escherichia coli* isolées lors de mammites subcliniques

Sur un total de 47 échantillons de lait de mélange provenant de vaches positives au C.M.T examinés (CMT>2), deux échantillons se sont révélés négatifs. Les autres échantillons cas ont été positifs. L'examen bactériologique a permis de faire l'isolement et l'identification des 13 souches d'*Escherichia coli* (figure 14).



Figure 13: Les colonies d'*E. coli* sur le milieu gélose MacConkey et EMB

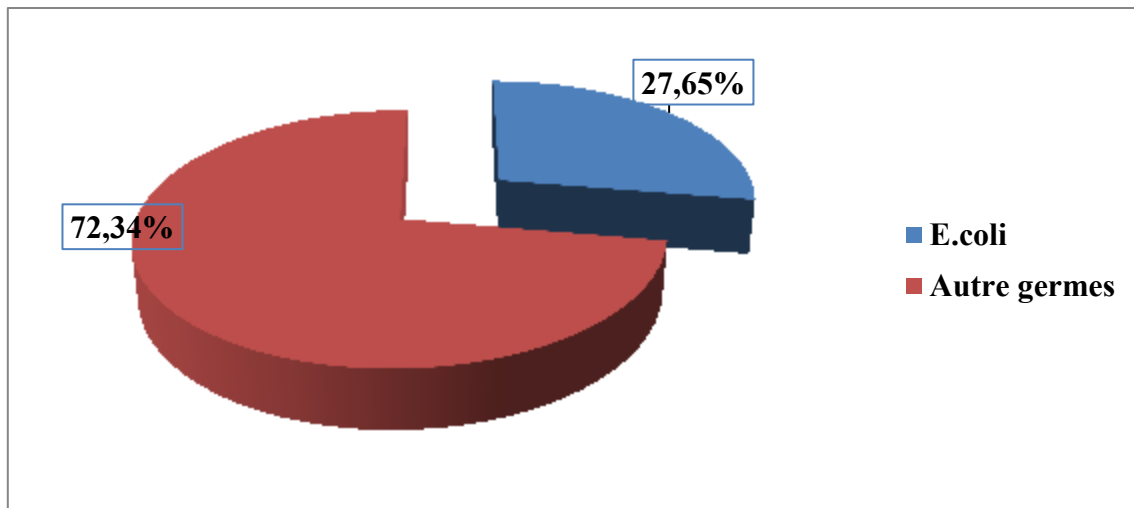


Figure 14: Prévalence d'*Escherichia coli* isolées lors de mammites subcliniques

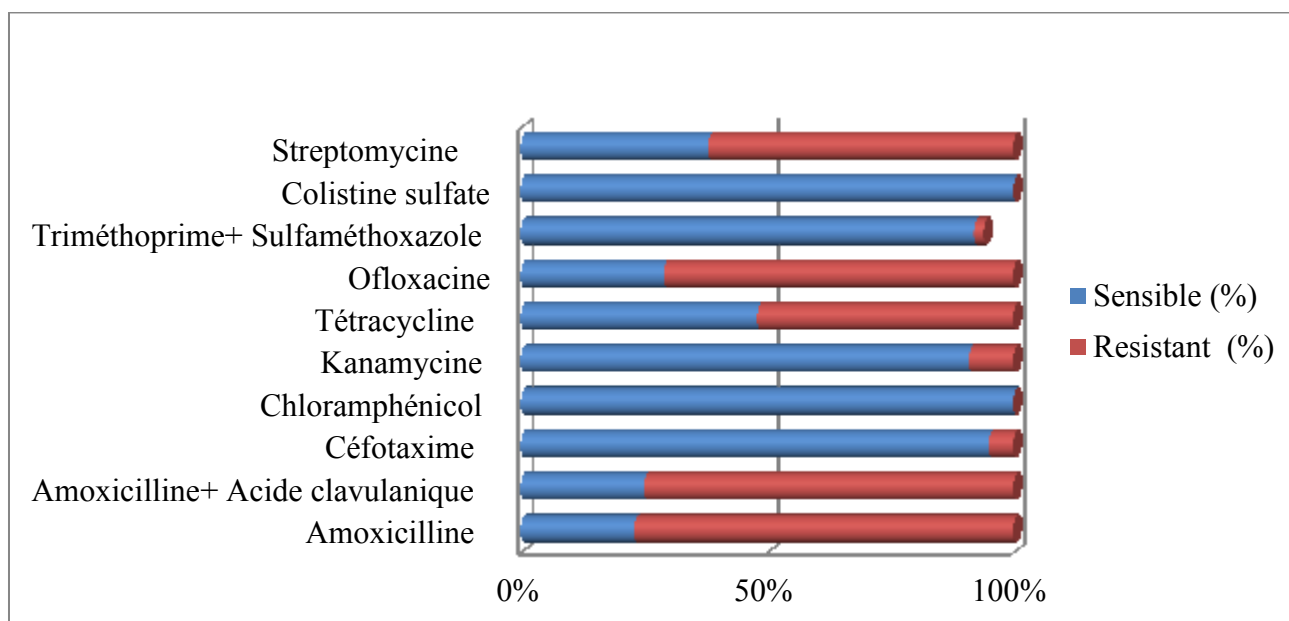
1.3.2 Résultats de l'antibiogramme

L'antibiogramme a permis de déterminer, in vitro, la sensibilité des 13 souches *Escherichia coli* isolées dans nos échantillons vis-à-vis de dix (10) différents antibiotiques. Les résultats relatifs de l'antibiogramme des 13 souches d'*E.coli* isolées des mammites subcliniques sont présentés par le tableau 4 et illustrés par la figure 15.

L'antibiogramme réalisé sur les souches d'*E.coli* révèle que six antibiotiques sur dix testés ont une efficacité de 90% et plus. Selon la Figure , l'étude de l'activité antibactérienne des antibiotiques vis-à-vis d'*Escherichia coli*, nous a révélé une forte résistance à l'Amoxicilline (77%), à l' Amoxicilline+ Acide clavulanique (75%) et à l' Ofloxacine (62%). Concernant le niveau de sensibilité, une sensibilité très élevée a été observée à la Céfotaxime(95%) , à la Kanamycine(91%), à la Tétracycline (98%) et à la Triméthoprine+ Sulfaméthoxazole (92%). Cependant, un taux de résistance relativement moyenne a été observé à la Streptomycine (62%). Par ailleurs, aucune résistance n'a été notée (100% de sensibilité) vis-à-vis de la colistine sulfate et chloramphénicol.

Tableau 4: Profil de sensibilité des *E. coli* vis à vis de 10 antibiotiques

Antibiotiques	Sensible (%)	Resistant (%)
Amoxicilline	23%	77%
Amoxicilline+ Acide clavulanique	25%	75%
Céfotaxime	95%	5%
Chloramphénicol	100%	0%
Kanamycine	91%	9%
Tétracycline	48%	52%
Ofloxacine	29%	71%
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	92%	2%
Colistine sulfate	100%	0%
Streptomycine	38%	62%

Figure 15: Pourcentage de sensibilité et de résistance des *E. coli* aux antibiotiques.

2 Discussion

La mammite subclinique est l'un des problèmes majeurs de l'industrie laitière à l'échelle mondiale (Wyder et al., 2011). *E. coli* est une cause fréquente de mammite bovine, en particulier au moment de la parturition et du début de la lactation, lorsque l'hôte est immunodéprimé (Keane, 2016, Hinthong et al., 2017). L'émergence de la résistance aux antimicrobiens parmi les agents pathogènes affectant la santé animale est une préoccupation croissante en médecine vétérinaire (Rehman et al., 2017).

Dans notre étude, la prévalence des mammites subcliniques chez les vaches laitières était de 39,16 % ; ce taux était supérieur à signalé dans le centre et l'East de l'Algérie, 37,6% (**Zaatout et al., 2019**) et 28,5% (**Saidi et al., 2013**), respectivement, et aussi dans Bishoftu ville en Éthiopie 40,1 % (**Birhanu et al., 2017**). Par contre, il est inférieur à la prévalence enregistré au centre d'Algérie (66.4%) (**Ghalache et al., 2021**), au Bangladesh 64,9% (**Hoque et al., 2014**), au Kenya 73,1% (**Mbindyo et al., 2020**), en Ouganda 86,2 % (**Abrahmsén et al., 2013**), au Népal (42.8%) (**Bhandari et al., 2021**) et dans ouest d'Algérie (62,8%) (**Meskini et al., 2021**). Les différentes fluctuations de la prévalence observées dans les différentes études pourraient être attribuées liées aux fortes variabilités qui existent entre régions, entre troupeaux au sein d'une même région, et même pour un troupeau donné à différents moments, ainsi qu'au niveau de production laitière, au niveau d'hygiène des bâtiments d'élevages, et à la détection de l'infection car la mise en évidence des modifications tant au niveau de la mamelle que du lait n'est pas toujours aisée. Ainsi, ces résultats pourraient être attribués à une mauvaise gestion de l'élevage ainsi qu'à des défaillances dans les mesures d'hygiène. D'ailleurs, l'hygiène de la traite a été jugée globalement déficiente dans la plupart des élevages suivies. Le simple lavage des trayons était négligé, parfois pratiqué à l'aide d'une lavette collective avec de l'eau uniquement et sans être suivi d'essuyage. L'élimination des premiers jets avant la traite se faisait généralement sur le sol sous la vache, présentant ainsi un facteur de risque de contamination de la surface de couchage de la vache.

Les résultats du CMT montrent que les races les plus touchées par les mammites subcliniques sont les vaches de race Prim'Holstein (43,33%) et les vaches de race Montbéliarde viennent en seconde position avec un pourcentage de 26,66%. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés dans une étude qui a montré que la race a un effet direct sur l'apparition des mammites subcliniques, surtout les vaches hautement productrices comme l'Holstein (**Ayano et al., 2013, Taher et al., 2020**), toutefois les résultats trouvés par **Mammeri et Benmakhlouf, (2016)**, ont montré que la race n'a pas d'effet sur la prévalence des mammites subcliniques.

Pour la prévalence des mammites cliniques en fonction du rang de lactation, dans notre étude, nous avons constaté que la proportion la plus élevée des mammites subcliniques a été enregistrée chez les vaches multipares (48%) suivie par les vaches primipares (24,44). Ces résultats sont comparables à celles rapportées par de nombreux auteurs qui montrent que le taux de mammites augmente avec le nombre de lactations (**Hanzen, 2013, Taher et al., 2020**

; **Aidat et Haouchine, 2020**). Cela peut être expliqué par la baisse des défenses naturelles au niveau de la glande mammaire qui accompagne le vieillissement des animaux. Ainsi, Le canal du trayon devient plus dilaté après chaque lactation, prédisposant davantage la vache aux infections mammaires.

À travers les résultats de la répartition des mammites subclinique due à *l'Escherichia coli* dans la wilaya d'Ain Témouchent. Dans notre étude, *E. coli* représente 27,65% des germes isolés de lait issus de mammites subclinique. L'importance de cette espèce est confirmée par plusieurs études montrant que les coliformes sont retrouvés dans 20 à 80% des mammites subcliniques (**Blum et al., 2017**). La prévalence d'*E. coli* dans les échantillons de lait était de 26,94 %. Lorsque cette prévalence a été comparée avec la prévalence d'autres études de la littérature, la prévalence actuelle est élevée. Par exemple, une prévalence de 6,5 % a été trouvée en Jordanie (**Ismail et Abutarbush, 2020**), 10 % au Mexique (**Olivares-Pérez et al., 2015**), 11,1 % en Chine (**Yu et al., 2020**), 15,5 % en Belgique (**Verbeke et al., 2014**) et 7 % en Égypte (**Ameen et al., 2019**), en Arabie saoudite (12.1%) (**Ayman et al., 2021**). Par contre, la prévalence d'*E. coli* dans notre étude était approximativement proche de la prévalence (27,65 %) trouvée dans des autres études récente en Algérie (26%) (**Tahar et al., 2020 ; Ghallache et al., 2021**) ou une étude en Éthiopie (27,3%) (**Haftu et al., 2012**), et inférieure à la prévalence constatée en Tunisie (31,7%) (**Saidani et al., 2018**), au Népal (38.5%) (**Bhandari et al., 2021**) et en Arabie Saoudia (35.8%) (**Md.Abdus Sattar Baget al., 2021**).

Des pratiques de traite et de manipulation non hygiéniques par les éleveurs pourraient contaminer le lait cru avec *E. coli*. Par conséquent, la présence d'*E. coli* dans le lait est un indicateur du manque d'hygiène lors de la traite (**Saidani et al., 2018**), et cela pose risque pour la santé des consommateurs (**Hinthong et al., 2017**). Certains des isolats d'*E. coli* étaient multirésistants (résistants à au moins 3 classes d'antibiotiques). Ceci est similaire aux rapports de **Pumipuntu et Pumipuntu (2020)**, **Eisen-berger et al. (2018)**, et **Hinthong et al. (2017)**, dans lesquels des *E. coli* multirésistants (ont été isolés à partir de cas de SCM dans vaches en lactation).

Les résultats obtenus de la présente étude ont révélé une grande variation de la résistance aux antibiotiques testés. Les souches d'*E. coli* ont montré un forte niveau de résistance à l'Amoxicilline (77%), à l'Amoxicilline+ Acide clavulanique (75%) et à l'Ofloxacin (62%). Les bêta-lactamines constituent avec les fluoroquinolones les familles

des antibiotiques qui ont une importance critique en médecine vétérinaire (**Sanders et al., 2017**). Cependant, une résistance observée à cette molécule pourrait être attribuée à un mauvais usage en élevage. Aussi, sur la base de sa grande prédominance au niveau de la flore intestinale des animaux à sang chaud (**Tenaillon et al., 2010**), *E. coli* constitue l'espèce qui est en majorité exposée aux différents traitements d'antibiotique. Cette forte prévalence de la résistance aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines serait due à l'utilisation souvent abusive et non contrôlée des bêta-lactamines en élevage et leur faible coût. De plus, la flexibilité génétique et l'adaptabilité de *E. coli* à des environnements en constante évolution permettent d'acquérir un grand nombre de mécanismes de résistance (**Szmlka et Nagy, 2013**). Nôtres résultats est conforme aux conclusions des études précédentes, menées en Algérie ainsi que dans d'autres pays, ont rapporté cette résistance élevée aux bêta-lactamines chez les souches de *E. coli* (**Saidi et al., 2014 ; Thomas et al., 2015. De Jong et al., 2018 ; Tahar et al 2020**). Cependant, des taux de résistance à amoxicilline plus faibles ont été rapportés par **Ameen et al (2019)** (33 %), **Tark et al., (2017)** (22,1 %) et **Nüesch-Inderbinen et al., 2019** (22 %). Dans cette étude, aucune résistance pour le la colistine sulfate et chloramphénicol ont été signalés dans les souches isolées d'*E. coli*. Le manque de résistance pourrait s'expliquer par son efficacité et par la faible utilisation de ces antibiotiques en raison de leur prix élevé par rapport à de nombreux autres agents.

Pour les fluoroquinolones, des études récentes en Algérie ont indiqué une résistance des souches d'*E. coli* isolées à partir de lait de vache contre la ciprofloxacine (13,5%) (**Tahar et al., 2020**) et contre l'enrofloxacin (39.2%) (**Ghallache et al., 2021**). En Tunisie, dans une étude similaire, 11% des isolats d'*E. coli* étaient résistants aux enrofloxacin (**Saidani et al., 2018**).

Pour les sulfamides, la résistance à la Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole dans la présente étude était faible (8 %) par rapport aux données de la littérature pour des études comparatives. Par exemple, le taux de résistance était de 23,3 % en Égypte (**Ameen et al., 2019**), de 17,8 % en Tunisie (**Burvenich et al., 2003**) et de 36,5% en Algérie (**Tahar et al., 2020**). Néanmoins, un faible taux de résistance a également été observé au Canada (5,8 %) (**Saini et al., 2012**).

Pour la Tétracycline, le taux de résistance était de 52 %. Dans le même pays pour des études similaires, le taux de résistance était de 75 % (**Tahar et al., 2020**) et de 52% (**Ghallache et al., 2021**). Le même haut niveau de taux de résistance a été observé en Tunisie

(46,6%) (**Saidani et al., 2018**) ou au Brésil (92%) (**Rangel et Marin, 2009**). Néanmoins, dans les régions où cet antibiotique était moins utilisé, des taux de résistance plus faibles ont été enregistrés, par exemple, les taux signalés étaient de 2,6 % au Canada (**Saini et al., 2012**), de 12 % en Chine (**Yu et al., 2020**), ainsi que de 16,66 % (**Ameen et al., 2019**) et 27,5 % en Égypte (**Ombarak et al., 2018**). La tétracycline représente l'une des plus anciennes molécules utilisées, tant en thérapeutique qu'en préventif, générant des taux remarquablement élevés de résistance.

Pour les aminoglycosides, les souches d *E. coli* ont montré des taux faibles de résistance de 9 % pour la Kanamycine. La grande sensibilité des souches d'*E. coli* à la Kanamycine était due à la non utilisation de cet antibiotique dans les traitements vétérinaires en Algérie, et donc pas de sélection de souches résistantes.

Des taux de résistance proches à ceux observés dans notre étude ont été rapportés par **Yu et al (2020)** en Chine, en Égypte (**Ombarak et al., 2018**), en France (**Botrel et al., 2010**), où les taux de résistance à la Kanamycine étaient respectivement de 2,8 %, 4,1 % et 6 %. Des taux élevés ont par contre été observés en Algérie par **Ghallache et al (2021)** avec 31,9%. En revanche, aucune résistance n'a été observée vis-à-vis des autres antibiotiques, à savoir, chloramphénicol et colistine sulfate. Dans l'étude effectuée par **Ghalache et al (2021)**, 13,4 % des souches d'*E. coli* étaient résistantes à la colistine.

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



*CONCLUSIONS ET
RECOMMANDATIONS*

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

En Algérie, le secteur laitier est un secteur stratégique de l'agriculture et de l'économie nationale. Cependant, les mammites représentent l'une des infections les plus couramment observées dans les élevages de bovins laitiers et sont responsables de graves conséquences sanitaires et économiques. Ces infections sont principalement causées par des bactéries coliformes (*E. coli*), des *staphylocoques* et des *streptocoques*. Les *Escherichia coli* sont des agents pathogènes importants émergents en santé publique

À travers des résultats obtenus à partir de cette étude effectuée sur l'élevage bovin laitier dans la région d'Ain Témouchent, il s'avère que les mammites demeurent l'une des pathologies dominantes qui sévissent dans les élevages bovins. Le dépistage par le test de CMT de 120 vaches en lactation au sein de 4 élevages reflète le fardeau que représentent les infections intra-mammaires pour les éleveurs algériens. On enregistre en effet, une prévalence de 39, 16% cas de mammite subclinique. Or, l'analyse bactériologique des échantillons de lait mammitieux montre, que les *E Coli* sont incriminé dans les mammites subcliniques avec une fréquence de 27,65%. Les résultats de l'enquête épidémiologique ont permis de mettre en évidence l'effet du rang de lactation, de la race et du stade de lactation sur la prévalence des mammites subcliniques.

Enfin, L'étude de la sensibilité, *in vitro*, des *Escherichia coli* identifiées vis-à-vis des antibiotiques, nous a révélé une forte résistance à l'Amoxicilline (77%), à l'Amoxicilline+ Acide clavulanique (75%) et à l' Ofloxacin (62%). Concernant le niveau de sensibilité, une sensibilité très élevée a été observée à la Céfotaxime(95%) , à la Kanamycine(91%), à la Tétracycline (98%) et à la Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole (92%). Cependant, un taux de résistance relativement moyenne a été observé à la Streptomycine (62%). Par ailleurs, aucune résistance n'a été notée (100% de sensibilité) vis-à-vis de la colistine sulfate et chloramphénicol.

Les conclusions de notre travail ont montré que les mammites à *Escherichia coli* restent un sérieux problème tant dans les mammites subcliniques. Pour en réduire l'incidence et la prévalence, la mise en place de plans de lutte contre les mammites se justifie donc pleinement. Il faut agir à deux niveaux : limiter les nouvelles infections et diminuer les taux des infections existantes. Ainsi il est recommandé de :

- 1) Dépister via CMT à intervalle régulier toutes les vaches en lactation pour traire les positives en fin de séquence.
- 2) Assurer un contrôle annuel et une maintenance régulière de la machine à traire.

- 3) Instaurer un traitement précoce et adapté aux mammites cliniques ainsi qu'une couverture antibiotique systématique au cours de la période sèche.
- 4) Réformer les vaches présentant des mammites récidivantes rebelles aux traitements.
- 5) Enfin, des mesures de désinfection des trayons et des bonnes pratiques quotidiennes de la traite doivent être bien suivies afin de diminuer le risque de survenue des mammites
- 6) Respect de l'hygiène des mains des trayeurs et de la machine à traire, le lavage des trayons avant chaque traite et l'essuyage des quartiers lavés doivent être régulièrement effectués.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abrahmsén M, Persson Y, Kanyima BM, Båge R., 2013. Prevalence of subclinical mastitis in dairy farms in urban and peri-urban areas of Kampala, Uganda. *Trop Animal Health Prod*, 46(1), 99–105.

Ameen F, Reda SA, El-Shatoury SA, Riad EM, Enany ME, Alarfaj AA., 2019. Prevalence of antibiotic-resistant mastitis pathogens in dairy cows in Egypt and potential biological control agents produced from plant endophyticactinobacteria *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26:1492–1498.

Ayman S. Mubarak, Hanan D. Alshammari, Dalia Al-Sarar, Roua A. Alsubki, Hassan A. Hemeg, Saleh A. Kabli, Osama A. Attala., 2021. Multidrug-resistant *Escherichia coli* in Raw Milk: Molecular Characterization and the potential impact of camel's Urine as an Antibacterial Agent. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28 (2021) 2091–2097

Bean, A., Williamson, J., Cursons, R.T., 2004. Virulence genes of *Escherichia coli* strains isolated from mastitic milk. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health* 51, 285–287

Bergonier, D., 2014. Les mammites, cours de 3^{ème} année, ENVT.

Bhandari Suman, Deepak Subedi, Bibas Bahadur Tiwari, Prajjwal Shrestha, Shambhu Shah, and Ahmad I. Al-Mustapha., 2021 : Prevalence and risk factors for multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from subclinical mastitis in the western Chitwan region of Nepal. *J. Dairy Sci.* 104:12765–12772
Ayman Elbehiry^{a,b}, Eman Marzouk^b, Ihab M. Moussac^d, Afrah Alenzie, Khalid S. Al-Maaryc

Birhanu M, Leta S, Mamo G, Tesfaye S., 2017. Prevalence of bovine subclinical mastitis and isolation of its major causes in Bishoftu Town, Ethiopia *BMC Res Notes*, 10(1), 767.

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.

Botrel, MA, Haenni M, Morignat E, Sulpice P, Madec JY, Calavas D., 2010. Distribution and antimicrobial resistance of clinical and subclinical mastitis pathogens in dairy cows in Rhone-Alpes, France. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7:479-487.

Boudry, D., 2005. “Traire un lait de qualité du lait : une attention de tous les jours. *Qualité Du Lait et Gestion Du Troupeau.*” Journée d'étude des AREDB d'Aubel.

Boutet, Philippe, Fabrice Bureau, and Pierre Lekeux., 2006. “La mammite bovine : de l'initiation à la résolution.” *Annales de Médecine Vétérinaire* 150, no. 1,

Bradley, A. 2002. Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet. J.* 164(2):116-128.
Mehrzad, J., Duchateau, L., Pyörälä, S., Burvenich, C., 2002. Blood and milk neutrophil

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

chemiluminescence and viability in primiparous and pluriparous dairy cows during late pregnancy, around parturition and early lactation. *J. Dairy Sci.* 85, 3268–3276.

Buard, Élodie., 2013. Thèse. « Dynamiques des interactions espèces - espace : mise en relation des pratiques de déplacement des populations d'herbivores et de l'évolution de l'occupation du sol dans le parc de Hwange (Zimbabwe) » Thèse de doctorat. Université Panthéon-Sorbonne - Paris I, 203 p.

Burton, J.L., Erskine, R.J., 2003. Immunity and mastitis. Some new ideas for an old disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 19, 1–45,

Burvenich, Christian, Valérie Van Merris, Jalil Mehrzad, Araceli Diez-Fraile, and Luc Duchateau., 2003. “Severity of *E. Coli* Mastitis Is Mainly Determined by Cow Factors.” *Veterinary Research* 34, no: 521–64.

Cohen N. et Karib H., 2006. Risque hygiénique lié à la présence des *Escherichia coli* dans les viandes et les produits carnés : un réel problème de santé publique. Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II. Les technologies de laboratoire. 1: 5-9.

Conrad C., Stanford K., Mcallister T., Thomas J. & Reuter T., 2016.- Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and current trends in diagnostics. *Animal Frontiers*, 6: 37-43.

Croxen M. A. & Finlay B. B., 2010.- Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology*, 8: 26-38.

D’costa V.M., King C.E., Kalan L., et al., 2011 Antibiotic resistance is ancient. *Nature* 477(7365), 457-461

De Jong, A., F. El Garch, S. Simjee, H. Moyaert, M. Rose, M. Youala, E. Siegwart, and VetPath Study Group., 2018. 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.

Döpfer, D., H. W. Barkema, T. J. G. M. Lam, Y. H. Schukken, and W., 1999. “Recurrent Clinical Mastitis Caused by *E coli* in Dairy Cows.” *Journal of Dairy Science* 82, no: 80–85.

Ducluzeau R & Raibaud P., 1985.- Microbial ecology of the digestive system. *Agressologie: revue internationale de physio-biologie et de pharmacologie appliquées aux effets de l'agression*, 26 :161- 163.

Durel L, Guyot H, Théron L., 2011. Vade-mecum des mammites bovines. Éditions Med’Com, Paris, France. 270 p

Durel L, Poutrel B ., 2006. Le diagnostic bactériologique des mammites par le vétérinaire praticien, solutions pratiques et limites. *Bulletin des GTV.* (33) :43-53.

Durel L. ; Faroult B. ; Lepoutre D. ; Brouillet P. ,2003. Mammites des bovins (cliniques et subcliniques) : La dépêche : démarches diagnostiques et thérapeutiques .La dépêche technique, 87, pp. 39

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Eisenberger, D., A. Carl, J. Balsliemke, P. Kämpf, S. Nickel, G. Schulze, and G. Valenza., 2018.** Molecular characterization of extended spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from milk samples of dairy cows with mastitis in Bavaria, Germany. *Microb. Drug Resist.* 24:505–510.
- Fagiolo, A., & Lai, O., 2007.** Mastitis in buffalo. *Italian Journal of Animal Science*, 6(sup2), 200-206.
- 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.
- Farmer J.J., Boatwright K.D. & Janda J.M., 2007.** Enterobacteriaceae : Introduction and identification. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A.P faller (Eds.), *Manual of Clinical microbiology*, 669p.
- Fartas. H, Bouzebda, Z Afri F et Khamassi S., 2017.** Prévalence et impact des mammites subcliniques sur la rentabilité de bovins laitiers dans l'extrême Est algérien. *Livestock Research for Rural Development* 29 (9) 2017.
- Freney J., Renaud F., Leclercq R et Riegel P., 2007** Précis de bactériologie clinique. Ed. ESKA. , Paris, pp.990, 991, 4(992), 993, 994,995.
- Ghallache Loubna, Abdellah Mohamed-Cherif, Bernard China, Faiza Mebkhout , Nesrine Boilattabi, Alaoua Bouchema, Ahmed Rebia, Ammar Ayachi, Djemel Khelef, Kamel Miroud, and Khatima Ait-Oudhia., 2021 .** Antibiotic Resistance Profile of *Escherichia coli* Isolated from Bovine Subclinical Mastitis of Dairy Farms in Algeria from 2017 to 2019. *World Vet J*, 11(3): 402-415, September 25, 2021.
- Giguere I. Sprescott J.F. ET Dowling P.M .,2013.** Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, 5 th Edition. Wiley-Blackwell, pp. 519-334
- Giguère S., Prescott J.F., Dowling P.M. (Éd.), 2013** Antimicrobial therapy in veterinary medicine, 5th ed. ed. Ames, Iowa, USA, Wiley Blackwell
- Gogoi-Tiwari J., Williams V., Waryah C.B., et al., 2015.** Comparative studies of the immunogenicity and protective potential of biofilm vs planktonic *Staphylococcus aureus* vaccine against bovine mastitis using non-invasive mouse mastitis as a model system. *Biofouling* 31(7), 543-554
- Gordon D. M. & Cowling A., 2003.-** The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology*, 149 : 3575-3586.
- Grimont, P.A.D., 1987.** Taxonomie des *Escherichia*. *Médecine Mal. Infect.* 17, 6–10.
- Grosjean J. et Pasquier C., 2009.** Bactériologie et virologie pratique.11ème édit De Boeck s.a, Bruxelles, p.128.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Guardabassi L. & Courvalin P., 2006.-** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. Aarestrup F.M. (ed.). Washington: ASM Press, P:1-18.
- 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.
- Haftu R, Taddele H, Gugsu G, and Kalayou S., 2012.** Prevalence, bacterial causes, and antimicrobial susceptibility profile of mastitis isolates from cows in large-scale dairy farms of Northern Ethiopia. Tropical Animal Health and Production, 44:1765-1771.
- Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., Hogeveen, H., 2007.** Economic effects of Bovine mastitis and mastitis management : a review. Vet Q 29, 18–31.
- Hanzen, C., 2010.** La pathologie infectieuse de la glande mammaire : Etiopathogénie et Traitements : Approche individuelle et de troupeau. Cours en ligne, Université de Liège, Belgique, 22, 63.
- Hill, A. W.1994** “*Escherichia coli* mastitis.” in : Carlton L. Gyles, Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals, Fourth Edition ed. *Escherichia coli* in domestic and humans, CAB International, 117-134.
- Hinthong, W., N. Pumipuntu, S. Santajit, S. Kulpeanprasit, S. Buranasinsup, N. Sookrung, W. Chaicumpa, P. Aiumurai, and N. Indrawattana., 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.
- Hogan, Joe, and K. Larry Smith., 2003** “Coliform Mastitis.” Veterinary Research 34, no : 507–19.
- Hollenbeck, B. a., 2012.** Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. Virulence 3(5), 421-433. Virulence 3(5), , 421-433.
- Hoque MN, Das ZC, Talukder AK, Alam MS, Rahman ANMA., 2014.** Different screening tests and milk somatic cell count for the prevalence of subclinical bovine mastitis in Bangladesh. Tropic Anim Health Product, 47(1), 79–86.
- Islam, M., Takagi, M., Fukuyama, K., Komatsu, R., Albarracin, L., Nochi, T., & 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>.
- Ismail ZB, and Abutarbush SM ., 2020.** Molecular characterization of antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from bovine mastitis. Veterinary World, 13:1588-1593.
- Jacquinet S., 2009.** Evaluation du dépistage des mammites par la conductivité électrique lectrique du lait. Th.D.Vétérinaire, Toulouse,

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Janeway, Charles A., Kenneth Murphy, Paul Travers, and Mark Walport., 2009.** Immunobiologie. De Boeck Supérieur, Third edition.
- Jean F., François R., Roland L et Philipe R., 2007.** Précis de Bactériologie clinique 2^{ème} édition, ESKA.
- Johnson, J.R., Russo, T.A., 2002.** Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: “the other bad *E coli*”. J. Lab. Clin. Med. 139, 155–162.
- Joly B. et Reynaud A., 2006 .** Entérobactéries : Systématiques et méthodes de diagnostic .Ed. TEC & DOC. Paris, pp.4(28), 2(29- 30), 3(31 37,38).
- Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L.T., 2004.** Pathogenic *Escherichia coli*. Nature Reviews Microbiology, 2 : 123-144
- Karmali, M.A., 2005.** Use of comparative genomics as a tool to assess the clinical and public health significance of emerging Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes. Meat Sci. 71, 62–71.
- 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.
- Martínez J.L., Baquero F., 2014.** Emergence and spread of antibiotic resistance: setting a parameter space. Upsala Journal of Medical Sciences 119(2), 68-77
- Mbindyo CM, Gitao GC, Mulei CM., 2020.** Prevalence, Etiology, and Risk Factors of Mastitis in Dairy Cattle in Embu and Kajiado Counties, Kenya. Vet Med Int , 1–12.
- Md.Abdus Sattar Bag, Md.Shahidur Rahman Khan, Md.Deluar Hossain Sami, Ferdousi Begum, Md.Shafiqul Islam, Md. Mizanur Rahman, Md.Tanvir Rahman , Jayedul Hassan., 2021.** Virulence determinants and antimicrobial resistance of *E. coli* isolated from bovine clinical mastitis in some selected dairy farms of Bangladesh. Saudi Journal of Biological Sciences 28 : 6317–6323
- Méheust D., Chevance A., Moulin G., 2016.** Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France Anses – Agence nationale du médicament vétérinaire
- Mehrzad, J., Duchateau, L., Burvenich, C., 2004.** Viability of milk neutrophils and severity of bovine coliform mastitis. J. Dairy Sci. 87, 4150–4162.
- Micali, G., Grilli, J., Osella, M., & Lagomarsino, M. C., 2018.** Concurrent processes set *E. coli* cell division. Science Advances, 4(11)
- Minor L. & Richard C., 1993.** Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Institut Pasteur, Paris, France, 217 p.
- 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 : 1112- 1143.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 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.
- Muylaert A. & Mainil J. G., 2012.-** Résistances bactériennes aux antibiotiques: les mécanismes et leur « contagiosité ». *Annales de médecine vétérinaire*, 156: 109-123.
- Nataro J. P & Kaper J. B., 1998.-** Diarrheogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11: 142-201.
- 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*, 6:000369.
- Octavia S. and Lan R., 2014.** Rosenberg et al. (eds.), *The Prokaryotes – Gammaproteobacteria: the family Enterobacteriaceae* p226-286. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Ogola, H, A Shitandi, et J Nanua., 2007.** Effect of mastitis on raw milk compositional quality. In: *Journal of Veterinary Science*, vol 8 , № 3, p237-242
- Olivares-Pérez J, Kholif AE, 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. *Tropical Animal Health and Production*, 47:1497-1504.
- Ombarak RA, Hinenoya A, Elbagory ARM, and Yamasaki S ., 2018.** Prevalence and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from raw milk and raw milk cheese in Egypt. *Journal of Food Protection*, 81:226-232.
- Opdebeeck, J. P., A. J. Frost, and D. O’Boyle., 1988** “Adhesion of *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia coli* to Bovine Udder Epithelial Cells.” *Veterinary Microbiology* 16, no :77–86.
- Oviedo-Boyso, J., Valdez-Alarcón, J.J., Cajero-Juárez, M., Ochoa-Zarzosa, A., López-Meza, J.E., Bravo-Patiño, A., Baizabal-Aguirre, V.M., 2007.** Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J. Infect.* 54, 399–409.
- Pankey, J. W 1989.** “Hygiene at Milking Time in the Prevention of Bovine Mastitis.” *British Veterinary Journal* 145, no. 5, September 1, 401–9.
- Pankey, J. W., R. J. Eberhart, A. L. Cuming, R. D. Daggett, R. J. Farnsworth, and C. K. McDuff., 1984** .“Uptake on Postmilking Teat Antisepsis.” *Journal of Dairy Science* 67, no: 1336–53 *Parasitic Diseases of Livestock*. Lefèvre PC, Blancou J, Chermette R, Uilenberg G, eds. Lavoisier. Vol. 2, Chapter 74: 917-945.
- Patrice,C., 2007.** Bacterial antibiotic resistance : Combinations of biochemical and genetic mechanisms , *bull. Acad. Vet. France-2008-Tome 161-N°1*, 7-12.
- Poutrel B. 1986.** L’amélioration de la qualité du lait par la lutte contre les mammites bovines. *Médecine et Nutrition*, 22 : 318-324.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Poutrel, B ,1983** . “La Sensibilité Aux Mammites: Revue Des Facteurs Liés À La Vache.” Ann. Rech. Vét 14, 89–104.
- Poutrel, B ,2008** , Fromageau, A. “Estimation de la prévalence des pathogènes impliqués dans les mammites clinique aiguës.” Bulletin GTV 43, 2008:65-68.
- Pumipuntu, N., and S. Pumipuntu., 2020.** Detection of antimicrobial resistance genes of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in *Escherichia coli* isolated from the water supply of smallholder dairy farms in Saraburi and Maha Sarakham, Thailand. Int. J. One Health 6:1–5.
- Rainard, P., Riollet, C., 2006.** Innate immunity of the bovine mammary gland. Vet. Res. 37, 369–400. doi:10.1051/vetres:2006007.
- Rangel P, and Marin JM., 2009** . Analysis of *Escherichia coli* isolated from bovine mastitic milk. Pesquisa Veterinária Brasileira, 29:363-368.
- Remy D., 2010.** Les mammites : hygiène, prévention, environnement, 1re édn. Paris, France, La France agricole, 260 p.
- Richards, Vincent P., Tristan Lefébure, Paulina D. Pavinski Bitar, Belgin Dogan, Kenneth W. Simpson, Ynte H. Schukken, and Michael J. Stanhope., 2015.** “Genome Based Phylogeny and Comparative Genomic Analysis of Intra-Mammary Pathogenic *Escherichia coli* .” PLoS ONE 10, no.
- Royster E., Wagner S.,2015.** Treatment of mastitis in cattle. The Veterinary Clinics Food Animal Practice., 31, pp.17–46.
- Ruegg P.L., 2017.**A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. Journal of Dairy Science 100(12), 10381-10397
- Sabtu N., Enoch D. A & Brown N. M., 2015.** Antibiotic resistance: what, why, where, when and how?. British Medical Bulletin., 116: 105-113.
- Saidani M, Messadi L, Soudani A, et al., 2018.** Epidémiologie, Antimicrobial Resistance, and Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Clinical Bovine Mastitis in Tunisia. Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.), 24:1242-1248.
- Saidi R, Khelef D, Kaidi R., 2013.** Subclinical mastitis in cattle in Algeria: Frequency of occurrence and bacteriological isolates. J South African Vet Assoc, 84(1). doi.org/10.4102/jsava.v84i1.929.
- Saidi, R., D. Khelef, and R. Kaidi. 2014.** Antibiotic susceptibility of Enterobacteriaceae species isolated from mastitic milk in Algeria. Asian Pac. J. Reprod. 3:311 – 316.
- Saini, V., J. T. McClure, D. Léger, G. P. Keefe, D. T. Scholl, D. W. Morck, and H. W. Barkema., 2012.** “Antimicrobial Resistance Profiles of Common Mastitis Pathogens on Canadian Dairy Farms.” Journal of Dairy Science 95, no: 4319–32.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Sanders P., Perrin-Guyomard A. & Moulin G ., 2017.** -Évolution de l'utilisation des antibiotiques en production animale. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 52: 301-311.
- Savic S., 2018.** Antibiotic use in animals. Londres, InTech
- Serieys F.,1985.** La numération des cellules du lait : interprétation pour le diagnostic et le Suivi des infections mammaires. Recueil de médecine vétérinaire : Les mammites bovines, 161, (6-7), p. 553-566.
- Shinozuka, Y., Kawai, K., Takeda, A., Yamada, M., Kayasaki, F., Kondo, N., & Higuchi, M. (2019).** Influence of oxytetracycline susceptibility as a first-line antibiotic on the clinical outcome in dairy cattle with acute *Escherichia coli* mastitis. Journal of Veterinary Medical Science, 81(6), 863-868.
- Smati M., Clermont O., Bleibtreu A., Fourreau F., David A., Daubie A. S., Hignard C., Loison O., Picard B. & Denamur E., 2015.-** Quantitative analysis of commensal *Escherichia coli* populations reveals host-specific enterotypes at the intra-species level. Microbiology Open, 4: 604-615.
- Smith BP, 2009** .Large animal internal medicine. 4th ed. St. Louis, Mo. :Mosby Elsevier :xlvii, 1821 p.
- Smith, K. Larry, D. A. Todhunter, and P. S. Schoenberger.,1985.** “Environmental Mastitis : Cause, Prevalence, Prevention.” Journal of Dairy Science 68, no : 1531–53.
- Sordillo, L. M., K. Shafer-Weaver, and D. Derosa. 1997.** Immunobiology of the mammary gland. J. Dairy Sci. 80(8):1851-1865.
- Sordillo, L.M., Kendall, J.T., Corl, C.M., Cross, T.H., 2005.** Molecular characterization of a saposin-like protein family member isolated from bovine lymphocytes. J. Dairy Sci. 88, 1378–1390.
- Srinivasan, Velusamy, Barbara E. Gillespie, Mark J. Lewis, Lien T. Nguyen, Susan I. Headrick, Ynte H. Schukken, and Stephen P. Oliver., 2007.**“Phenotypic and Genotypic Antimicrobial Resistance Patterns of *Escherichia coli* Isolated from Dairy Cows with Mastitis.” Veterinary Microbiology 124, no: 319–28.
- Srivastava A.K., Kumaresan A., Manimaran A., Prasad S., 2015.** Mastitis in Dairy Animals, An Update. Dehli, Satish Serial Publishing House
- Suojala, Leena, Tarja Pohjanvirta, Heli Simojoki, Anna-Liisa Myllyniemi, Anna Pitkälä, Sinikka Pelkonen, and Satu Pyörälä,2011.** “Phylogeny, Virulence Factors and Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated in Clinical Bovine Mastitis.” Veterinary Microbiology 147,
- Tahar S, Nabil MM, Safia T, Ngaiganam EP, Omar A, Hafidha C, Hanane Z, Rolain JM, Diene SM., 2020.** Molecular Characterization of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Milk of Dairy Cows with Clinical Mastitis in Algeria. Journal of Food Protection, 83:2173-2178

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Tark, D. S., D. C. Moon, H. Y. Kang, S. R. Kim, H. M. Nam, H. S. Lee, S. C. Jung, and S. K. Lim., 2017.** Antimicrobial susceptibility and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* isolated from bovine mastitic milk in South Korea from 2012 to 2015. *J. Dairy Sci.* 100:3463 – 3469.
- Thomas, V., A. De Jong, H. Moyaert, S. Simjee, F. El Garch, I. Morrissey, H. Marion, and M. Vallé., 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.
- Todhunter, D. A., K. L. Smith, J. S. Hogan, and P. S. Schoenberger 1991.** “Gram-Negative Bacterial Infections of the Mammary Gland in Cows.” *American Journal of Veterinary Research* 52, no. 2, February 184–88.
- Verbeke J, Piepers S, Supré K, and De Vliegher S., 2014.** Pathogen-specific incidence rate of clinical mastitis in Flemish dairy herds, severity, and association with herd hygiene. *Journal Of Dairy Science* 97:6926-6934.
- Vimont A., 2007.** Optimisation de la recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shiga- toxines (STEC). Thèse de doctorat, Université de Claude Bernard-Lyon 1, France, 318 P.
- Vittecoq, Marion, Sylvain Godreuil, Franck Prugnolle, Patrick Durand, Lionel Brazier, Nicolas Renaud, Audrey Arnal, et al., 2016.** « Antimicrobial Resistance in Wildlife ». *Journal of Applied Ecology* 53 (2): 519-29.
- Vranakis I., Goniou I., Psaroulaki A., et al., 2014** Proteome studies of bacterial antibiotic resistance mechanisms. *Journal of Proteomics* 97, 88-99
- Wagner , S., Erskine , R., 2006.** “Antimicrobial drug use in bovine mastitis.” in: Giguère S, Prescott JD, Baggot RD, et al, *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine* Fourth Edition, Oxford, Blackwell: 507-510.
- Wang Q., Ruan X., Wei D., Hu Z, Wu L., Yu T., Feng L. & Wang L., 2010.** Development of a Serogroup-Specific Multiplex PCR Assay to Detect a Set of *Escherichia coli* Serogroups based on the Identification of Their O-antigen Gene Clusters. *Molecular and Cellular Probes*, 24 : 286-290.
- Wang, J. H., Y. J. Zhou, and P. He., 2010.** *Staphylococcus aureus* induces apoptosis of human monocytic U937 cells via NF- κ B signaling pathways. *Microb. Pathog.* 49(5):252-259.
- 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.
- Wenz, John R., Franklyn B. Garry, and George M. Barrington.2006** “Comparison of Disease Severity Scoring Systems for Dairy Cattle with Acute Coliform Mastitis.” *Journal of the American Veterinary Medical Association* 229, no. 2 : 259–62.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Wyder AB, Boss R, NaskovaJ, Kaufmann T, Steiner A, Graber HU., 2011.** *Streptococcus spp.* And related bacteria: their identification and their pathogenic potential for chronic mastitis—a molecular approach. *Res Vet Sci* ;91:349–57.
- Yakhlef H, Madani T, Ghozlane F et Bir A 2010.** Rôle du matériel animal et de l'environnement dans l'orientation des systèmes d'élevages bovins en Algérie. 8èmes journées des sciences vétérinaires, Dimanche 18 avril 2010, Elharrach.
- 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 .
- Yuzn , Wang J, Ho H, Wang YT, Huang SN, Han RW., 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.
- Zaatout N, Ayachi A, Kecha M., 2019.** Epidemiological investigation of subclinical bovine mastitis in Algeria and molecular characterization of biofilm-forming *Staphylococcus aureus*. *Trop Anim Health Product*, 52(1), 283–92.
- Zaffiri L., Gardner J., Toledo-Pereyra L.H., 2013 .** History of Antibiotics: From Fluoroquinolones to Daptomycin (Part 2). *Journal of Investigative Surgery* 26(4), 167-179
- Zakaria Meskini , Nadra Rechidi-Sidhoum, Khadidja Zouaoui, Khalil Bounaama , Abdelkader Homrani., 2021.** Infectious aetiologies of subclinical bovine mastitis and antimicrobial susceptibility on northwest of algeria. *Veterinaria* vol .70 • Issue 3 •2 0 2 1

Résumé

L'objectif de ce travail consiste à évaluer la prévalence des mammites subcliniques due à l'*E Coli* dans quelque élevage de la région d'Ain Témouchent et à évaluer la sensibilité aux antibiotiques in vitro de ces germes isolés du lait de mammité. A la lumière des résultats obtenus, il s'avère que les mammites cliniques sont bien présentes dans nos élevages avec un taux de 39,16%. Les résultats de l'enquête épidémiologique ont permis de mettre en évidence l'effet du rang de lactation, de la race et du stade de lactation sur la prévalence des mammites subcliniques. L'examen bactériologique a permis de mettre en évidence que *E Coli* est impliqué dans 27,65% des cas de mammites subclinique. Ainsi, l'étude de l'antibiorésistance de ces germes isolés révèle l'existence de résistances non négligeables à l'action des Amoxicilline, Amoxicilline+ Acide clavulanique et des Ofloxacine avec un niveau d'inefficacité qui dépasse les 70%. Par contre, aucune résistance n'a été notée (100% de sensibilité) vis-à-vis de la colistine sulfate et chloramphénicol. Cette étude a donc permis d'évaluer la prévalence des mammites subcliniques dues à *E. coli*. Toutefois, des études complémentaires pourraient être mises en œuvre sur un plus grand nombre d'élevage afin d'évaluer et de s'assurer de l'efficacité des mesure préventives appliqués.

Mots clés : mammité subclinique, prévalence, résistance, *E Coli*

Abstract

The objective of this work is to evaluate the prevalence of clinical mastitis in some farms in the region of Ain Témouchent and finally to evaluate in vitro the antibiotic susceptibility of those pathogens isolated from milk of mastitis. In light of the results obtained, it appears that clinical mastitis are present in our farms with a rate of 39,16%. The results of the epidemiological investigation helped to highlight the effect of parity, race, and lactation stage on the prevalence of subclinical mastitis. Bacteriological examination showed that *E Coli* is involved in 27.65% of subclinical mastitis cases. Thus, the study of antibiotic resistance of these isolated germs reveals the existence of significant resistance to the action of Amoxicillin, Amoxicillin+ clavulanic acid and Ofloxacin with a level of ineffectiveness that exceeds 70%. On the other hand, no resistance was noted (100% sensitivity) to colistin sulfate and chloramphenicol. This study was therefore able to assess the prevalence of subclinical mastitis due to *E. coli*. However, additional studies could be carried out on a larger number of farms in order to evaluate and ensure the effectiveness of the preventive measures applied.

Keywords: Subclinical mastitis, prevalence, resistance, *E coli*

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم انتشار التهاب الثدي السريري في بعض الماشية في منطقة عين تيموشنت وتقييم حساسية المضادات الحيوية في المختبر لهذه الجراثيم المعزولة من حليب الثدي . في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها، اتضح أن التهاب الثدي السريري موجود في مزارعنا بمعدل 39.16%. أظهرت نتائج المسح الوبائي تأثير مرحلة الرضاعة على انتشار التهاب الثدي . أظهر الفحص البكتيريولوجي أن إيشيريشيا كوللي متورط في 27,65% من حالات التهاب الثدي تحت السريري وبالتالي فإن دراسة مقاومة المضادات الحيوية لهذه الجراثيم المعزولة تكشف عن وجود مقاومة كبيرة لعمل الأموكسيسيلين وأموكسيسيلين+ حمض الكلافولانيك وأوفلوكساسين بمستوى من عدم الفعالية يتجاوز 70%. من ناحية أخرى، لم يلاحظ أي مقاومة (حساسية 100%) لكبرينات الكوليسيتين والكلورامفينيكول. لذلك تمكنت هذه الدراسة من تقييم انتشار التهاب الثدي تحت السريري . ومع ذلك، يمكن إجراء دراسات إضافية على عدد أكبر من المزارع من أجل تقييم وكفاءة فعالية التدابير الوقائية المطبقة.

الكلمات المفتاحية: التهاب الضرع، اختبار التهاب الضرع في كاليفورنيا، المضادات الحيوية المضادات الحيوية