

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 de Biologie



Projet de Fin d'Études
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

***Prévalence et antibiorésistance des entérobactéries
isolées des mammites chez la vache laitière dans la
région d'Ain Témouchent***

Présenté Par :

- 1) Mlle DRID Djemaa Ouafaa
- 2) Mlle OUANANE Raouda

Devant le jury composé de :

Dr. ZIANE Mohammed	Pr	UAT.B.B (Ain Témouchent)Président
Dr. CHIBANI Hiba Rahman	M C A	UAT.B.B (Ain Témouchent) Eaminateur
Dr. BOUAMRA Mohammed	Pr	UAT.B.B (Ain Témouchent) Encadrant

Année Universitaire 2024/2025

Remerciements

*Je suis profondément reconnaissant envers **Dieu** le tout puissant pour m'avoir insufflé la force, la patience et le courage nécessaires à l'achèvement de ce travail.*

Mes remerciements les plus sincères s'adressent à toutes les personnes qui, par leurs conseils avisés, leur précieuse collaboration, leur soutien moral indéfectible et leur amitié, ont grandement contribué à la concrétisation de ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma gratitude particulière à :

***Pr . BOUAMRA Mohammed**, Pr à l'UAT.B.B (Ain Témouchent), qui a eu la gentillesse d'accepter d'être mon directeur de mémoire. Sa direction, empreinte à la fois de fermeté et d'une infinie bienveillance, a illuminé chaque étape de ce travail. Ses suggestions pertinentes, véritables phares dans l'obscurité, et ses encouragements constants m'ont été d'une utilité inestimable. Je prie Dieu qu'Il le garde et le bénisse pour sa guidance exceptionnelle et son soutien indéfectible qui ont été la clé de voûte de cette réalisation.*

***Pr . ZIANE Mohammed**, Pr à l'UAT.B.B (Ain Témouchent), pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant la présidence du jury de ce mémoire.*

***Dr. CHIBANI Hiba Rahman**, M.C.A à l'UAT.B.B (Ain Témouchent), pour l'honneur de sa participation en tant que membre du jury.*

J'adresse également ma profonde reconnaissance à l'ensemble des enseignants du département de biologie et du département agroalimentaire, qui ont enrichi ma formation tout au long de ce parcours universitaire.

Enfin, mes remerciements les plus vifs vont à toutes les personnes qui m'ont apporté leur soutien, qu'il soit physique ou moral, et qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

MERCI BEAUCOUP

Dédicace

Je souhaite dédier humblement ces pages à...

*À **mamère**, mon trésor , Cette réussite est la tienne, car sans ton amour inconditionnel, tes efforts, tes sacrifices, et ton soutien je n'aurais jamais pu achever ce parcours. Je te remercie pour tout ce que tu as fait pour moi, tu es et tu resteras toujours le pilier de ma vie.*

À mon cher père

*À la douce mémoire de mon grand-père, **mon très cher Bassidi**, bien qu'il ne soit plus à mes côtés, mais occupe toujours une place éternelle dans mon cœur. Je sais, au plus profond de mon être, que si tu étais encore parmi nous, tes yeux brilleraient d'une immense fierté en voyant l'aboutissement de ce travail.*

*À **mon binôme, Rawda OUANANE** pour nos moments de collaboration, nos échanges fructueux et notre entraide constante. Ce travail est aussi le fruit de notre synergie.*

*À **toute ma famille**, pour leur amour, leurs encouragements et leur présence. Vous êtes ma force et ma motivation.*

*À **mes amis**, pour leur soutien, leur bonne humeur et les moments de partage qui ont allégé les périodes de stress.*

Et enfin, à celles et ceux que je n'ai pas nommés mais qui sont toujours présents dans mon cœur et m'accompagnent au quotidien.

DRID Djemaa Ouafaa

Je dédie ce travail à :

Ma chère mère, source de tendresse, de courage et d'inspiration. Ton amour inconditionnel, tes sacrifices silencieux et tes prières constantes ont guidé chacun de mes pas. Cette réussite t'appartient.

Mon père, pour sa force tranquille, sa patience, et ses encouragements discrets mais essentiels tout au long de ce parcours.

Ma binôme, Djemaa DRID OUAFAA, avec qui j'ai partagé cette aventure intellectuelle et humaine. Merci pour ton engagement, ton soutien et ta détermination. Ce mémoire est aussi le fruit de notre complicité.

Ma famille, pour son amour, ses encouragements et sa présence dans les moments les plus décisifs — en particulier ***mes deux sœurs***, pour leur affection, leur soutien constant et leur inspiration au quotidien.

Mes ami(e)s, pour leur énergie positive, leurs mots d'encouragement et leur aide précieuse, surtout dans les moments de doute.

Et enfin, ***à moi-même***, pour avoir cru, persévéré et tenu bon malgré les difficultés.

OUANANE raouda

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS

DÉDICACE

LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INTRODUCTION..... 1

PARTIE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1	Les mammites bovines.....	3
1.1	Définition et importance des mammites.....	3
1.2	Mammites cliniques.....	3
1.3	Mammites subcliniques.....	4
1.4	Importance des mammites.....	5
1.4.1	Impact des mammites sur la santé humaine.....	5
1.4.2	Impact économique des mammites.....	5
1.4.3	Impact des mammites sur la qualité du lait.....	6
1.4.4	Facteurs de risque des mammites.....	6
1.4.4.1	Facteurs liés à l'animal.....	6
1.4.4.2	Facteurs environnementaux.....	6
1.4.4.3	Facteurs liés à la traite.....	7
1.4.4.4	Facteurs nutritionnels et immunitaires.....	7
2	Étiologies des mammites.....	7
2.1	Agents pathogènes contagieux.....	7
2.2	Agents pathogènes environnementaux.....	8
2.3	Levures et mycoplasmes.....	8
3	Définition générale des entérobactéries.....	9
3.1	Caractères biochimiques.....	9
3.2	Caractères morphologiques.....	10
3.3	Caractéristiques biochimiques.....	10
3.4	Caractères antigéniques.....	11
3.5	Principales espèces d'entérobactéries impliquées dans les mammites bovines.....	11
3.5.1	<i>Escherichia coli</i>	11
3.5.2	<i>Klebsiella spp.</i>	12
3.5.3	<i>Enterobacter spp.</i>	13

3.5.4	<i>Serratia spp.</i>	14
3.6	Pouvoir pathogène des entérobactéries dans les mammites	15
4	Antibiotiques et Résistance aux antibiotiques	16
4.1	Types d'antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire	17
4.2	Mécanismes d'action des antibiotiques	18
4.3	Résistance aux antibiotiques.....	18
4.4	Types d'antibiorésistance	19
4.4.1	La résistance naturelle	19
4.4.2	La résistance acquise	19
4.5	Mécanismes de résistance chez les entérobactéries.....	20
4.6	Causes et facteurs favorisant l'antibiorésistance	20
<i>PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE</i>		
4.7	Objectifs de l'étude.....	22
4.8	Présentation de la de la région d'étude	22
4.9	Dépistage des mammites subcliniques	23
4.9.1	Principe et technique de réalisation.....	23
4.9.2	Lecture et interprétation	24
4.10	Prélèvements et analyse microbiologique	24
4.10.1	Prélèvement des échantillons de lait	24
4.10.2	Analyse microbiologique	26
4.10.2.1	Enrichissement.....	26
4.10.2.2	Ensemencement	26
4.10.3	Identifications des germes (<i>Escherichia. Coli et Klebsiella pneumoniae</i>).....	27
4.10.3.1	Identification morphologique.....	27
4.10.3.1.1	Examen macroscopique	27
4.10.3.1.2	Examen microscopique	27
4.10.3.1.3	Examen direct à l'état frais	27
4.10.3.2	Identification biochimique	28
4.10.3.2.1	Tests d'identification biochimique	29
4.10.3.3	Antibiogramme des souches isolées	32
5	Résultats.....	34
5.1	Prévalence des mammites subclinique dans la région d'Ain-Temouchent	34
5.2	Résultats des analyses bactériologiques :	34

5.2.1	Prévalence des Entérobactéries isolées de mammites subcliniques.....	34
5.2.2	Résultats des antibiogrammes	35
5.2.2.1	Profil de sensibilité aux antibiotiques <i>d'E. Coli</i>	35
5.2.2.2	Profil de sensibilité des <i>Klebsiellapneumoniae</i> vis à vis les antibiotiques.....	37
6	Discussions	38
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS		49
<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i>		

LISTE DES TABLEAUX

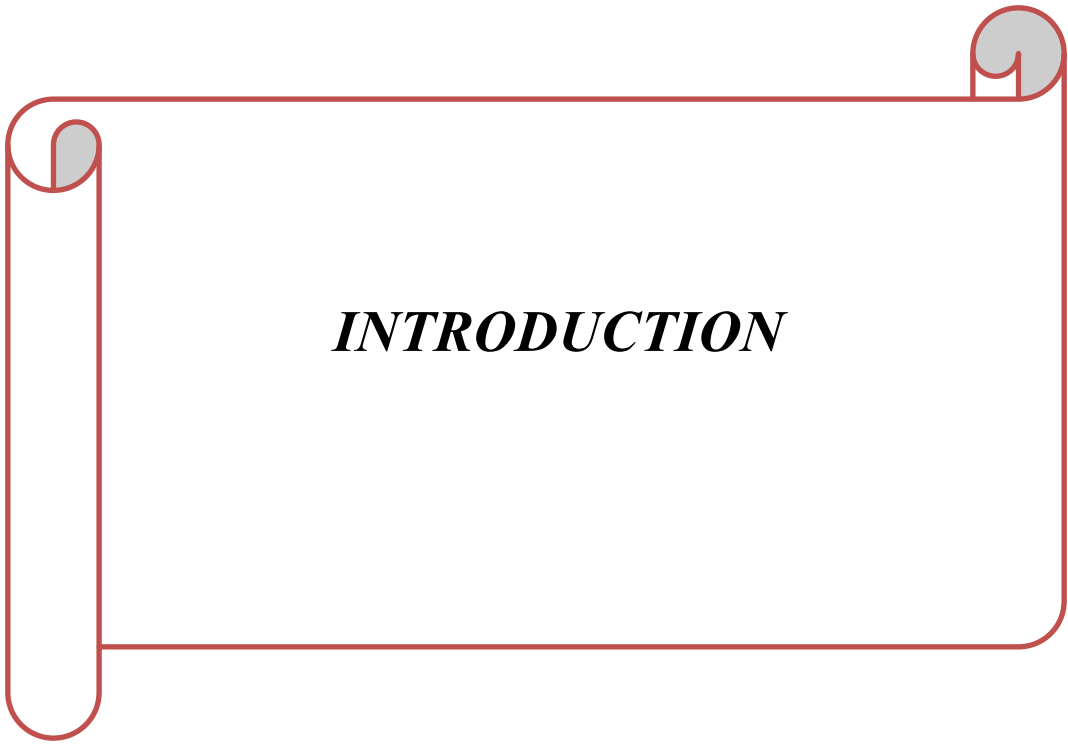
Tableau 1: Score de sévérité des mammites cliniques	4
Tableau 2: Interprétation du Leucocyttest selon les indications accompagnant le réactif	24
Tableau 3: Profil de sensibilité des E. coli vis-à-vis les antibiotiques	37
Tableau 5: Profil de sensibilité des Klebsiella pneumoniae vis à vis les antibiotiques	38

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Carte géographique de la Wilaya d'Ain Témouchent (Gifex.com).....	23
Figure 2: Les échantillons du lait prélevés	25
Figure 3: réalisation d'enrichissement	26
Figure 4: Prévalence des mammites subclinique dans la région d'Ain-Temouchent	34
Figure 5: Prévalence des Entérobactéries isolées de mammites subcliniques	35
Figure 6: Profil de sensibilité aux antibiotiques d' <i>E. Coli</i>	36
Figure 7: Profil de sensibilité des Klebsiella pneumoniae vis à vis les antibiotiques.....	38

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- **ADN** : Acide DésoxyriboNucléique
- **API** : Analytical Profile Index
- **ATB** : Antibiotique
- **BHIB** : Brain Heart Infusion Broth
- **CMT** : California Mastitis Test
- **CVA** : Cristal Violet Acétone
- **DNA** : DeoxyriboNucleic Acid
- **EDTA** : Éthylène Diamine Tétracétique
- **E. coli** : Escherichia coli
- **g** : gramme
- **h** : heure
- **IL-1** : Interleukine 1
- **IL-6** : Interleukine 6
- **K. pneumoniae** : Klebsiella pneumoniae
- **LPS** : Lipopolysaccharide
- **ml** : millilitre
- **mm** : millimètre
- **MHB** : Mueller Hinton Broth
- **min** : minute
- **O₂** : Dioxygène
- **TNF- α** : Tumor Necrosis Factor alpha
- **UFC** : Unité Formant Colonie
- **μ g** : microgramme
- **°C** : degré Celsius



INTRODUCTION

INTRODUCTION

En Algérie, le secteur laitier constitue l'un des piliers de notre sécurité alimentaire. Il est classé parmi les secteurs prioritaires du fait qu'il génère un produit stratégique qui est le lait. Les différentes politiques agricoles adoptées depuis l'indépendance ont eu pour objectifs primordiaux l'amélioration de la sécurité alimentaire. L'augmentation du niveau de la production laitière et l'amélioration de la qualité hygiénique du lait produit sont, entre autres, de grands défis auxquels sont confrontés les élevages bovins laitiers. Cette susceptibilité accrue des animaux aux maladies engendre des pertes économiques considérables pour les élevages, soulignant l'importance d'une approche équilibrée pour concilier productivité et bien-être animal (**Roche, 2020 ; Leroy et al., 2021**). En effet, les mammites représentent l'une des pathologies les plus préjudiciables et les plus coûteuses auxquelles sont confrontés les éleveurs laitiers à travers le monde. Véritable fléau pour la production, elles sont à l'origine de pertes économiques considérables, d'une augmentation significative de la charge de travail pour les exploitants et d'une détérioration notable du bien-être animal. De plus, ces infections sont la principale raison de l'utilisation d'antibiotiques dans les élevages laitiers, contribuant ainsi aux défis croissants liés à l'antibiorésistance (**Halasa et al., 2007 ; Abdelli et al., 2020 ; Ghozlane et al., 2021**).

Ils représentent une entrave à la production laitière. Il se définit comme étant l'inflammation de la glande mammaire qui est principalement causée par une infection d'origine bactérienne. Elle peut aussi être due à une infection d'origine virale, ou fongique ou encore résulter de changements physiologiques, d'un traumatisme ou d'une lésion (**Oviedo-boyso et al., 2007**). Elles sont souvent de type subclinique, rendant leur détection d'autant plus complexe (**Ruegg, 2017**). 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**).

Grâce aux mesures mises en places ces dernières années pour lutter contre ces infections, une baisse de la prévalence des mammites subcliniques et cliniques dues à certains pathogènes à réservoir mammaire comme *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* et *Streptococcus agalactiae* a été notée (**Bradley, 2002**). À contrario, une augmentation des mammites cliniques dues aux germes à réservoir environnemental été constatée et ce malgré les mesures de lutte mises en place.

Les entérobactéries 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 (**Oliver et al., 2011, Taher et al., 2020**). La maîtrise des mammites en élevage reste un enjeu sanitaire majeur. Leur traitement se fait avec des antibiotiques à spectre large. Cependant, même avec l'usage intensif de ces antibiotiques, on remarque parfois une inefficacité du traitement, ce qui suscite naturellement des inquiétudes concernant l'apparition de la résistance aux antibiotiques. Ainsi, la résistance aux antibiotiques est devenue une question de plus en plus importante pour la santé publique et suscite un intérêt scientifique grandissant. Dans ce contexte l'objectif de cette étude a été de contribuer à l'actualisation des données épidémiologiques sur les mammites subclinique due aux entérobactéries en Algérie afin de proposer une stratégie efficace de lutte et de contrôle.

Les objectifs spécifiques assignés à cette étude sont :

- 1) Les objectifs spécifiques assignés à cette étude sont :
 - 1) évaluer la prévalence mammites subcliniques dans quelque élevage bovin laitier par un test Californian Mastitis Test (CMT) dans la wilaya d Ain-Temouchent,
 - 2) Déterminer l'identité et la fréquence des entérobactéries responsables de ces infections
 - 3) Évaluer la sensibilité aux antibiotiques in vitro de ces germes isolés de lait de mammite.



PAPARTIE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1 Les mammites bovines

1.1 Définition et importance des mammites

La mammite est une inflammation du tissu glandulaire de la mamelle, touchant un ou plusieurs quartiers, généralement causée par une infection microbienne. Elle provoque des changements physiques, chimiques et microbiologiques dans le lait, ainsi que des lésions pathologiques au niveau du tissu mammaire. Trois éléments sont impliqués dans une mammite : la bactérie, l'hôte (et plus spécifiquement ses systèmes de défense) et l'environnement. Les infections mammaires se distinguent par une quantité anormalement élevée de cellules somatiques et par des altérations chimiques et biochimiques du lait (**Hamann et al., 2010 ; Srivastava et al., 2015, Mudaliar, 2018**). Le degré de gravité est clinique ou subclinique, l'évolution est chronique, aiguë ou suraiguë, la terminaison c'est-à-dire la guérison apparente ou réelle ou la mort de l'animal (**Markey et al., 2013**). 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 (**Srivastava et al., 2015**). Il existe deux formes principales : la mammite clinique, caractérisée par des symptômes visibles (modification de l'aspect du lait, gonflement, rougeur, douleur), et la forme subclinique, plus discrète, détectée uniquement par des tests (numération cellulaire, culture bactérienne)(**Diwakar et al., 2020**). Enfin, la mammite peut avoir des implications pour la santé publique. Le lait contaminé peut contenir des bactéries pathogènes d'intérêt zoonotique, ainsi que des résidus d'antibiotiques, ce qui pose des risques pour le consommateur si le lait n'est pas correctement traité (**Diwakar et al., 2020**).

2.2 Classification des mammites

D'après **Diwakar et al (2020)**. Les mammites bovines peuvent être classées en deux grandes catégories selon l'expression clinique de l'infection : mammites cliniques et mammites subcliniques.

1.2 Mammites cliniques

La mammite clinique se manifeste par des signes visibles et facilement détectables. Elle se caractérise par des modifications évidentes du lait (présence de flocons, changement de couleur ou de consistance), ainsi que par des signes inflammatoires locaux sur la mamelle (chaleur, gonflement, rougeur, douleur à la palpation). Dans les cas graves, l'animal peut

également présenter des signes généraux tels que de la fièvre, une baisse d'appétit, voire une réduction marquée de la production laitière. Selon **Diwakar et al. (2020)**, cette forme est souvent causée par des pathogènes à potentiel virulent élevé, comme *Escherichia coli* ou *Staphylococcus aureus*. Elle nécessite une intervention vétérinaire rapide et un traitement adapté. Une mammite clinique de grade 1 se caractérise par une modification de la consistance du lait lui-même. La mammite clinique sera définie comme grade 2 lorsque des manifestations cliniques d'inflammation du quartier (comme la chaleur, la douleur et le gonflement) sont accompagnées d'une modification de la qualité du lait, sans pour autant affecter l'état général de l'animal. En fin de compte, une mammite clinique de grade 3 se manifesterait par des changements dans le lait, une inflammation du quartier et une diminution du poids (Tableau 1). On peut différencier les infections mammaires cliniques en fonction de la gravité de leurs signes cliniques. (**Bosquet et al., 2005 ; Rainard et Gilbert, 2010, 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%

1.3 Mammites subcliniques

Les mammites subcliniques sont insidieuses et caractérisées par une absence de signes cliniques (asymptomatiques). La forme subclinique est la plus répandue, bien qu'elle soit souvent négligée. La réaction inflammatoire liée à l'infection se manifeste principalement par une hausse du nombre de cellules somatiques présentes dans le lait du quartier infecté, illustrée par des leucocytes, des neutrophiles, des macrophages et des cellules épithéliales, en particulier les polynucléaires neutrophiles. Cela s'accompagne également d'une altération de

la composition chimique du lait (diminution des niveaux de caséine et de lactose, augmentation des taux d'électrolytes) (**Bosquet *et al.*, 2013 ; Desert et Riou, 2014 ; Srivastava et al., 2015**). Elle ne présente aucun symptôme visible à l'œil nu, ni au niveau du lait ni de la mamelle. Toutefois, elle est détectable grâce à une élévation du taux de cellules somatiques dans le lait et à l'isolement de bactéries lors d'une culture bactériologique.

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 200 000 cellules/ml. Les mammites subcliniques peuvent guérir spontanément ou alors rester à ce stade plusieurs mois voire même s'aggraver et basculer vers la mammite clinique. Cette forme peut persister longtemps sans être identifiée, causant des pertes économiques importantes dues à la baisse de production laitière et à l'altération de la qualité du lait. Elle constitue aussi un réservoir d'infection pour les autres vaches du troupeau ((**Roy et Schmitt, 2014, Royster et Wagner, 2015 ; Diwakar et al., 2020**).

1.4 Importance des mammites

1.4.1 Impact des mammites sur la santé humaine

Selon **Mirinda et al. (2019)**, certaines bactéries pathogènes ou leurs toxines présentes dans le lait de vaches atteintes de mammite peuvent constituer une menace pour la santé humaine. Les inquiétudes de santé publique se portent sur le risque zoonotique découlant de la contamination du lait par divers micro-organismes. L'infection mammaire à *S. aureus* constitue également un problème de santé publique, étant donné que plus de la moitié des souches impliquées dans les infections mammaires portent des gènes d'entérotoxines. Habituellement, l'élimination par les glandes infectées dans le lait est faible (inférieure à 10 000 UFC/mL), cependant, la contamination du lait en citerne peut provoquer une intoxication alimentaire due au *Staphylococcus* lorsqu'on consomme des produits laitiers fermentés non pasteurisés (**Peton et Le Loir, 2014**).

1.4.2 Impact économique des mammites

Les mammites correspondent à l'affection la plus coûteuse en élevage bovin laitier. La mammite cause des pertes économiques dans les élevages laitiers (1^{er} rang des affections bovines en termes d'impact économique), en raison de faible rendement des mamelles infectées, des traitements vétérinaires, des saisies du lait (contaminés par des agents

pathogènes et/ou avec des résidus d'antibiotiques) ainsi que de la réforme prématurée des vaches infectées (Peton et Le Loir, 2014 ; Van soest et *al.*, 2016, shinozika et *al.*, 2019).

1.4.3 Impact des mammites sur la qualité du lait

La mammite a un effet néfaste sur la production laitière et la durabilité de celle-ci. La mammite modifie également la composition des éléments présents dans le lait produit, notamment la quantité de graisses, protéines, lactose et minéraux par rapport au lait issu de vaches en bonne santé. Ces divergences ont un impact négatif sur la qualité de la transformation des produits laitiers : il est crucial d'employer un lait de premier choix pour optimiser la productivité et la durée de vie des produits transformés comme le fromage. Les infections mammaires influencent aussi la transformation du fromage, car elles provoquent une modification de la composition du lait, réduisant ainsi ses valeurs nutritionnelles et technologiques (Pérez-Cabal et *al.*, 2008, Wolf et *al.* 2010, Cha et *al.*, 2011).

1.4.4 Facteurs de risque des mammites

Les mammites bovines sont influencées par plusieurs facteurs interdépendants touchant l'animal, son environnement et les pratiques d'élevage. Ces facteurs modulent la susceptibilité à l'infection, la sévérité de la maladie, ainsi que sa propagation au sein du troupeau (Diwakar et *al.*, 2020 ; Mekonnen et *al.*, 2017).

1.4.4.1 Facteurs liés à l'animal

Le risque de mammite augmente avec l'âge de la vache et le nombre de lactations. Les vaches multipares présentent des altérations de la glande mammaire qui favorisent la colonisation bactérienne. Le stade de lactation joue également un rôle : les premiers jours post-vêlage constituent une période critique en raison de l'immunodépression physiologique (Wenz et *al.*, 2001). Des lésions aux trayons ou une hyperkératose facilitent l'entrée des agents pathogènes (Radostits et Fetrow, 1995).

1.4.4.2 Facteurs environnementaux

Un logement mal entretenu, humide, avec une litière souillée, favorise la prolifération des bactéries environnementales comme *E. coli* ou *Streptococcus uberis* (Barnouin et *al.*, 1986). La présence de boue, d'eau stagnante, ou une mauvaise ventilation accroissent la pression d'infection autour des trayons, surtout entre les traites (Mekonnen et *al.*, 2017).

1.4.4.3 Facteurs liés à la traite

Une hygiène déficiente lors de la traite (absence de lavage ou de désinfection des trayons, machines mal nettoyées) constitue un facteur majeur de transmission des bactéries, en particulier celles responsables de mammites contagieuses comme *Staphylococcus aureus* (**Diwakar et al., 2020**). La surtraite ou une pression de vide excessive peuvent provoquer des microtraumatismes, altérant la barrière protectrice naturelle du sphincter du trayon (**Radostits et Fetrow, 1995**).

1.4.4.4 Facteurs nutritionnels et immunitaires

Une alimentation pauvre en oligo-éléments (sélénium, zinc) ou en antioxydants (vitamine E) affaiblit les défenses immunitaires de l'animal. De même, le stress (manipulations fréquentes, chaleur, changement d'alimentation) a un effet immunosuppresseur qui favorise l'installation d'infections intramammaires (**Mekonnen et al., 2017 ; Wenz et al., 2001**).

2 Étiologies des mammites

Les mammites bovines peuvent être causées par une grande diversité de micro-organismes, principalement des bactéries. Ces agents pathogènes sont généralement classés en deux grandes catégories selon leur origine : contagieux ou environnementaux (**Diwakar et al., 2020 ; Radostits et Fetrow, 1995**).

2.1 Agents pathogènes contagieux

Ces bactéries se transmettent principalement lors de la traite, d'une vache à l'autre. Elles colonisent la glande mammaire et y persistent souvent de manière chronique.

- ✓ *Staphylococcus aureus* : Ce germe est l'un des plus fréquemment isolés dans les mammites chroniques. Il produit des toxines, des enzymes et des biofilms qui lui permettent de résister au système immunitaire et aux traitements. Il est souvent responsable de lésions irréversibles de la glande mammaire (**Wenz et al., 2001**).
- ✓ *Streptococcus agalactiae* : Très contagieux, il est capable de se multiplier dans le canal galactophore. Il provoque une inflammation persistante accompagnée d'une augmentation marquée des cellules somatiques dans le lait (**Barnouin et al., 1986**).

- ✓ *Corynebacteriumbovis* : Ce germe opportuniste colonise souvent le canal du trayon. Bien que généralement peu virulent, il peut favoriser l'installation d'autres infections (**Diwakar et al., 2020**).

2.2 Agents pathogènes environnementaux

Ces bactéries proviennent de la litière, du sol, de l'eau ou du matériel de traite. Elles sont responsables de mammites souvent aiguës, parfois sévères.

- ❖ *Escherichia coli* : Ce coliforme est souvent impliqué dans les formes cliniques sévères, notamment au début de la lactation. Il peut entraîner une mammite gangréneuse, avec des signes systémiques graves, voire la mort de l'animal (**Mekonnen et al., 2017**).
- ❖ *Klebsiellaspp.* : Présente dans les litières humides, notamment à base de sciure de bois, cette bactérie est à l'origine de mammites cliniques aiguës, similaires à celles causées par *E. coli* (**Radostits et Fetrow, 1995**).
- ❖ *Streptococcus uberis* : Pathogène environnemental majeur, il survit dans la litière, les matières fécales et le sol. Il peut également devenir contagieux au sein du troupeau, compliquant son contrôle (**Wenz et al., 2001**).
- ❖ *Enterobacterspp., Serratiaspp., Proteusspp.* : Moins fréquents, ces bacilles à Gram négatif sont aussi d'origine environnementale. Ils provoquent des mammites aiguës ou subcliniques, souvent résistantes aux antibiotiques (**Diwakar et al., 2020**).

2.3 Levures et mycoplasmes

Bien que plus rares, certaines levures (*Candida spp.*) ou bactéries sans paroi (*Mycoplasmaspp.*) peuvent aussi provoquer des mammites, notamment en cas de traitements prolongés ou d'hygiène déficiente lors de la traite (**Radostits et Fetrow, 1995**).

3 Définition générale des entérobactéries

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche. Elles constituent une vaste famille d'un point de vue génétique. Elles se développent en aéro-anaérobose et sur gélose nutritive ordinaire. Elles acidifient le glucose par voie fermentative avec souvent production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites (sauf certaines souches d'*Erwinia* et de *Yersinia*). Elles n'ont pas d'oxydase et possèdent une catalase (sauf *Shigelladysenteriae* sérotype 1). Elles contiennent un antigène commun et un contenu en GC% de l'ADN compris entre 39 et 59 % (**Janda et Abbott., 2006**). Elles sont largement retrouvées sur les plantes, dans le sol et l'eau et dans le tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud, d'où leur nom. Certaines entérobactéries constituent une part importante de la flore intestinale de l'homme. Les entérobactéries sont souvent impliquées en pathologie humaine. Certaines d'entre elles ont acquis différents mécanismes de résistance aux antibiotiques qui les placent comme bactéries de priorité critique par l'Organisation Mondiale de la Santé pour la recherche et le développement de nouveaux traitements antibiotiques (**Avril et al., 2000 ; Jolyet Reynaud., 2007**).

3.1 Caractères biochimiques

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobose et en anaérobose (**Freneyet al., 2000**). Sur les milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries peuvent obtenir différentes formes :

- ✓ Elles sont bombées et rondes à bord net, leur surface est lisse et brillante. Il s'agit des formes S (smooth). Après repiquage en bouillon des colonies S, la culture se traduit par un trouble homogène sur toute la hauteur du tube dont l'agitation fait apparaître des ondes moirées.
- ✓ Les formes R (rough) s'observent surtout avec les souches ayant subi plusieurs repiquages. Les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teinte mate. En bouillon, elles donnent une culture dont l'aspect est grumeleux.
- ✓ Les colonies rugueuses sont habituelles avec les *Klebsiella*. Leur diamètre peut dépasser 10mm ; elles ont une tendance à la confluence. On peut les rencontrer aussi avec d'autres espèces, en particulier chez les *E. coli* et les *salmonelles*.
- ✓ Les colonies naines s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques. C'est le cas par exemple des colonies naines de *E. coli* à la

limite de la visibilité sur gélose de Mueller-Hinton, alors qu'elles ont des dimensions normales sur un milieu riche (gélose au sang) (Avril J et al., 2000).

3.2 Caractères morphologiques

Les entérobactéries sont des bacilles Gram négatif, droits, mesurant environ 1 à 3 µm de long et 0,4 à 0,6 µm de large. Elles ne forment pas de spores, mais certaines espèces, comme celles du genre *Proteus*, possèdent une mobilité active grâce à des flagelles péritriches. Sur le plan microscopique, elles apparaissent généralement en isolats ou en paires, rarement en chaînes. Certaines entérobactéries comme *Klebsiella* spp produisent une capsule visible, qui joue un rôle important dans leur pouvoir pathogène, notamment en les protégeant contre la phagocytose (Bakhoun, 2004 ; Abbott, 2007)

3.3 Caractéristiques biochimiques

Les entérobactéries se caractérisent par une série de réactions biochimiques qui permettent de les identifier et de les différencier entre espèces et genres. Ces tests sont indispensables en diagnostic vétérinaire pour isoler l'agent pathogène responsable de la mammite. (Quinn et al., 1994 ; Bergey et al., 2005). Parmi les principaux caractères biochimiques observés :

- ❖ Fermentation du glucose : toutes les entérobactéries fermentent le glucose, produisant généralement de l'acide, parfois accompagné de gaz. (Diwakar et al., 2020)
- ❖ Réduction des nitrates en nitrites : test positif pour la majorité des espèces.
- ❖ Production d'indole : certaines espèces comme *E. coli* produisent de l'indole à partir du tryptophane. (Quinn et al., 1994).
- ❖ Utilisation du citrate (test de Simmons) : *Klebsiella* et *Enterobacter* sont capables d'utiliser le citrate comme seule source de carbone, contrairement à *E. coli*. (Bergey et al., 2005).
- ❖ Production d'uréase : positive chez *Proteus* et *Klebsiella*, négative chez *E. coli*.
- ❖ Dégradation de la lysine (test LDC) : *E. coli* est généralement positif.
- ❖ Test VP et MR (Voges-Proskauer / MethylRed) : permettent de différencier *Enterobacter* (VP+) de *E. coli* (MR+).

Ces tests sont souvent combinés dans des galeries de diagnostic rapide, comme API 20E, largement utilisées en microbiologie vétérinaire pour identifier les bacilles Gram négatif entériques. Ces propriétés biochimiques sont essentielles pour différencier les espèces au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*, notamment dans le contexte des infections mammaires où plusieurs entérobactéries peuvent être impliquées.

3.4 Caractères antigéniques

Les entérobactéries possèdent des antigènes de surface qui jouent un rôle dans leur classification sérologique, leur pouvoir pathogène et leur interaction avec le système immunitaire. (Quinn et al., 1994 ; Diwakar et al., 2020). Les trois principaux types d'antigènes sont :

- ✓ Antigène O (somatique) : composé de lipopolysaccharides (LPS), il est présent sur la membrane externe. Il permet la classification sérologique des souches (*E. coli* O157:H7, par exemple).
- ✓ Antigène H (flagellaire) : présent uniquement chez les bactéries mobiles. Il est constitué de protéines flagellaires.
- ✓ Antigène K (capsulaire) : présent chez certaines espèces encapsulées, comme *Klebsiellapneumoniae*. Il joue un rôle dans l'échappement à la phagocytose. (Bergey et al., 2005).

Ces caractères antigéniques sont utilisés dans des tests sérologiques pour identifier les souches pathogènes spécifiques, notamment chez *E. coli*.

3.5 Principales espèces d'entérobactéries impliquées dans les mammites bovines

3.5.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli est l'une des entérobactéries les plus fréquemment isolées dans les cas de mammite bovine, en particulier sous sa forme clinique aiguë (Quinn et al., 1994 ; Diwakar et al., 2020). Cette bactérie est un habituel commensal de l'intestin des ruminants, mais certaines souches, dites mammite-pathogènes, possèdent des facteurs de virulence particuliers leur permettant de provoquer une infection mammaire.

Caractéristiques :

- ✓ Bacille Gram négatif, non sporulé, aérobie facultatif.

- ✓ Mobile grâce à des flagelles péritriches.
- ✓ Capable de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz (**Bergey et al., 2005**).
- ✓ Donne des colonies roses sur gélose MacConkey, et des colonies vert métallique sur EMB (Eosine-Méthylène Bleu).

Les souches pathogènes possèdent souvent des facteurs de virulence, tels que :

- Endotoxines (LPS) responsables de l'inflammation aiguë.
- Fimbriae de type I facilitant l'adhésion aux cellules épithéliales mammaires.
- Capsule permettant d'échapper à la phagocytose.
- Systèmes de captation du fer (sidérophores), nécessaires pour survivre dans l'environnement pauvre en fer de la glande mammaire (**Diwakar et al., 2020**).

Les infections à *E. coli* entraînent généralement une mammite d'apparition brutale, souvent avec fièvre, chute de production et inflammation marquée de la mamelle. Elles sont souvent associées à des conditions d'hygiène dégradées (litière souillée, environnement humide).

3.5.2 Klebsiella spp.

Les bactéries du genre *Klebsiella*, en particulier *Klebsiella pneumoniae*, sont des agents pathogènes environnementaux fréquemment impliqués dans les cas de mammite bovine, surtout pendant les périodes chaudes et humides (**Diwakar et al., 2020 ; Quinn et al., 1994**).

Caractéristiques générales :

- ✓ Bacilles Gram négatif, non mobiles (absence de flagelles), non sporulés.
- ✓ Possèdent une capsule mucoïde épaisse, visible sur gélose, qui confère un aspect brillant aux colonies (**Bergey et al., 2005**).
- ✓ Lactose positif : colonies roses sur gélose MacConkey.
- ✓ Test d'uréase : généralement positif.
- ✓ Utilisent le citrate comme seule source de carbone.

Facteurs de pathogénicité :

- ✓ Capsule : protège contre la phagocytose et les défenses de l'hôte.
- ✓ Endotoxines (LPS) : responsables de la réponse inflammatoire.

- ✓ Capacité de survie dans l'environnement : ces bactéries peuvent persister dans la litière, la sciure de bois, et les matières organiques humides.

Les mammites causées par *Klebsiella spp* sont souvent cliniques sévères, avec inflammation locale intense, parfois accompagnée de signes systémiques comme l'hyperthermie et la chute de production. Elles sont souvent associées à une mauvaise gestion de la propreté des logettes et des matériaux de litière (**Quinn et al., 1994**). En laboratoire, leur identification est facilitée par leur aspect mucoïde typique et les résultats des tests biochimiques (API 20E).

3.5.3 *Enterobacter spp.*

Les *Enterobacter spp.* sont des bactéries opportunistes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Bien qu'elles soient moins fréquemment isolées que *E.coli* ou *Klebsiellaspp.*, elles sont reconnues comme des agents pathogènes environnementaux pouvant être impliqués dans les mammites bovines, notamment dans les élevages ayant des pratiques d'hygiène déficientes (**Diwakar et al., 2020**).

Caractéristiques générales :

- ✓ Bacilles Gram négatif, mobiles (flagelles péritriches), non sporulés.
- ✓ Lactose positifs : colonies roses sur gélose MacConkey.
- ✓ Utilisent le citrate, produisent de l'acétoïne (test VP positif), mais généralement indole négatif (**Quinn et al., 1994**).
- ✓ Uréase souvent négatif ou faiblement positif.
- ✓ Colonies non mucoïdes, à l'inverse de *Klebsiellaspp.*

Pouvoir pathogène :

- ✓ Production de LPS (endotoxines) responsables de la réponse inflammatoire.
- ✓ Capacité à survivre dans l'environnement et dans les milieux humides contaminés.
- ✓ Peuvent former des biofilms, augmentant leur résistance aux désinfectants et leur persistance dans les équipements de traite (**Bergey et al., 2005**).

Les mammites à *Enterobacter* sont généralement cliniques modérées, parfois subcliniques. Leur détection peut être difficile sans culture bactériologique, car les signes

cliniques sont parfois peu marqués. L'isolement est facilité par les tests biochimiques (API 20E) et l'étude des profils de sensibilité aux antibiotiques. Leur implication dans les infections mammaires est souvent liée à une contamination par de l'eau, du matériel ou des milieux de traite insuffisamment nettoyés.

3.5.4 *Serratia spp.*

Les *Serratia spp.*, notamment *Serratia marcescens*, sont des bactéries opportunistes rarement impliquées dans les mammites bovines, mais leur présence est en augmentation dans certains élevages industriels. Elles sont résistantes à plusieurs désinfectants et sont capables de survivre dans des milieux hostiles, ce qui explique leur émergence comme agents pathogènes nosocomiaux ou environnementaux (**Diwakar et al., 2020 ; Quinn et al., 1994**).

Caractéristiques générales :

- ✓ Bacilles Gram négatif, mobiles, non sporulés.
- ✓ Fermentent le glucose sans production de gaz.
- ✓ Certaines souches produisent un pigment rouge appelé prodigiosine, donnant une coloration rougeâtre aux colonies (surtout à température ambiante).
- ✓ Utilisent le citrate, généralement lactose négatif, uréase négatif (**Bergey et al., 2005**).

Pouvoir pathogène :

- ✓ Production d'enzymes extracellulaires (DNase, lipase, protéases) pouvant altérer les tissus mammaires.
- ✓ Biofilm : grande capacité à former des biofilms sur les surfaces plastiques et métalliques (lignes de traite, seaux, etc.), ce qui complique leur élimination.
- ✓ Résistance fréquente à plusieurs antibiotiques, ce qui rend leur traitement plus difficile (**Diwakar et al., 2020**).

Les mammites à *Serratia* sont souvent subcliniques ou cliniques modérées, mais elles peuvent devenir persistantes si le traitement n'est pas adapté. L'infection est généralement associée à l'utilisation d'eau contaminée, de désinfectants mal conservés, ou à un mauvais nettoyage du matériel de traite. Leur isolement exige souvent des milieux spécifiques et une attention particulière à la pigmentation des colonies.

3.6 Pouvoir pathogène des entérobactéries dans les mammites

Les entérobactéries jouent un rôle majeur dans l'étiologie des mammites cliniques, en particulier les formes aiguës ou sévères, souvent d'origine environnementale. Leur pouvoir pathogène est lié à plusieurs facteurs de virulence qui leur permettent d'adhérer, d'envahir les tissus mammaires, d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte et de provoquer une inflammation importante.

a) Adhésion aux cellules mammaires

L'adhésion constitue la première étape de l'infection. Les entérobactéries, notamment *Escherichia coli* et *Klebsiella spp.*, possèdent des fimbriae (adhésines de type I, P ou curli) leur permettant de se fixer aux cellules épithéliales mammaires (**Fairbrother et al., 2012**). Cette fixation facilite leur colonisation et la formation de biofilms, qui renforcent leur résistance à la phagocytose et aux antibiotiques.

b) Endotoxines (lipopolysaccharides)

Le lipopolysaccharide (LPS), composant majeur de la membrane externe des bactéries Gram négatif, agit comme une endotoxine puissante. Lorsqu'il est libéré dans la glande mammaire, le LPS déclenche une réponse inflammatoire sévère, provoquant fièvre, douleur, gonflement de la mamelle et altération du lait. Cette réaction est due à l'activation des macrophages et des neutrophiles qui libèrent des cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-1 et l'IL-6 (**Burvenich et al., 2003**).

c) Sidérophores et acquisition du fer

Les entérobactéries ont développé des systèmes de capture du fer via la production de sidérophores comme l'entérobactine ou l'aérobactine. Ces molécules leur permettent de survivre dans l'environnement pauvre en fer du lait et de proliférer dans le tissu mammaire (**Watts, 2009**).

d) Résistance au système immunitaire

Certaines souches d'entérobactéries produisent des capsules (par exemple *Klebsiella pneumoniae*) qui inhibent la phagocytose par les cellules immunitaires. D'autres modifient

leurs antigènes de surface pour échapper à la reconnaissance immunitaire (**Döpfer et al., 2014**). Cette capacité à échapper aux défenses de l'hôte favorise la persistance de l'infection.

e) Production de toxines et enzymes

Outre le LPS, certaines entérobactéries produisent des enzymes comme les protéases, lipases et hémolysines, qui participent à la dégradation des tissus, facilitent l'invasion et accentuent la gravité de l'inflammation (**Suojala et al., 2011**).

4 Antibiotiques et Résistance aux antibiotiques

3.1 Définition des antibiotiques et histoire de découverte

Le terme antibiotique (issu du Grec anti : contre, bio : la vie) désigne un agent antimicrobien naturel, d'origine biologique et/ou synthétique et/ou semi-synthétique qui, à faible concentration, cible les bactéries sans nuire à l'hôte. Ils sont largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire pour traiter les infections bactériennes. Le terme « antibiotique » a été introduit pour la première fois par **Selman Waksman en 1941**. Ils empêchent la multiplication des bactéries (bactériostase) ou entraînent leur destruction (bactéricide) par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie (**Lavigne, 2007 ; Mehdi, 2008**).

L'histoire des antibiotiques commence avec la découverte accidentelle de la pénicilline par **Alexander Fleming en 1928**, qui a marqué le début de l'ère moderne des antibiotiques. La pénicilline, extraite du champignon *Penicillium* notamment, a été le premier antibiotique à être largement utilisé lors de la Seconde Guerre mondiale, sauvant des milliers de vies humaines et animales. Depuis, de nombreuses classes d'antibiotiques ont été découvertes, telles que les tétracyclines, les aminosides, les macrolides ou encore les céphalosporines. En médecine vétérinaire, leur utilisation a été déterminante dans le contrôle des infections bactériennes comme les mammites, améliorant la santé animale et la productivité des troupeaux.

Cependant, leur usage massif a conduit au fil du temps à l'émergence de résistances bactériennes, qui sont aujourd'hui un enjeu mondial majeur.

4.1 Types d'antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire

En médecine vétérinaire, une large gamme d'antibiotiques est utilisée pour traiter les infections bactériennes, notamment les mammites chez les bovins. Ces antibiotiques peuvent être classés en différentes familles selon leur structure chimique et leur mécanisme d'action. Les principales classes utilisées sont :

- 1) **Bêta-lactamines** : comprenant les pénicillines (ex. : amoxicilline) et les céphalosporines (ex. : céfalexine). Elles agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne. Ce sont des antibiotiques très utilisés pour les infections mammaires (**Papich et al., 2020**).
- 2) **Tétracyclines** : comme l'oxytétracycline, qui agissent en inhibant la synthèse des protéines bactériennes. Elles sont largement employées en traitement systémique ou intra-mammaire (**Kassem, 2019**).
- 3) **Aminosides** : tels que la gentamicine et la néomycine. Ce sont des antibiotiques bactéricides actifs contre les bacilles à Gram négatif, souvent présents dans les mammites d'origine entérobactérienne (**Papich et al., 2020**).
- 4) **Macrolides** : comme la tylosine ou l'érythromycine, qui inhibent la synthèse protéique. Utilisés pour leur action contre les bactéries Gram positif et leur diffusion tissulaire.
- 5) **Phénicolés**: notamment le chloramphénicol et le florfénicol, utilisés pour des infections réfractaires, bien que leur usage soit strictement réglementé.
- 6) **Quinolones et fluoroquinolones** : telles que l'enrofloxacin et la marbofloxacin, qui agissent en bloquant la synthèse de l'ADN bactérien. Réservées aux cas graves, leur emploi est de plus en plus restreint pour limiter la résistance.

En pratique, le choix de l'antibiotique dépend de plusieurs facteurs : l'espèce bactérienne en cause, les résultats de l'antibiogramme, le mode d'administration, les délais d'attente et la législation en vigueur.

4.2 Mécanismes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent selon différents mécanismes d'action, ciblant des fonctions cellulaires essentielles chez les bactéries. Voici les principaux mécanismes :

- 1) **Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire** :Les bêta-lactamines (pénicillines, céphalosporines) inhibent les enzymes responsables de la synthèse du peptidoglycane, composant essentiel de la paroi bactérienne, entraînant la lyse des bactéries (**Papich et al., 2020**).
- 2) **Inhibition de la synthèse protéique** :Les tétracyclines se lient à la sous-unité 30S du ribosome bactérien et empêchent l'ajout des acides aminés à la chaîne peptidique. Les macrolides, lincosamides et chloramphénicol se fixent à la sous-unité 50S, inhibant la formation des liaisons peptidiques (**Kassem, 2019**).
- 3) **Altération de la membrane cytoplasmique**: Certains antibiotiques comme la polymyxine B modifient la perméabilité de la membrane bactérienne, entraînant une fuite des constituants intracellulaires (**Toutain et al., 2016**).
- 4) **Inhibition de la synthèse de l'ADN ou de l'ARN** :Les fluoroquinolones (ex. : enrofloxacin, marbofloxacin) inhibent la DNA gyrase et la topoisomérase IV, enzymes nécessaires à la réplication de l'ADN bactérien. Les rifamycines inhibent l'ARN polymérase, bloquant la transcription (**Papich et al., 2020**).
- 5) **Inhibition de voies métaboliques essentielles**: Les sulfamides et le triméthoprime inhibent la synthèse de l'acide folique, indispensable à la synthèse des nucléotides bactériens (**Toutain et al., 2016**).

Chaque classe d'antibiotiques a une spécificité d'action, ce qui justifie le recours à des antibiogrammes pour choisir le traitement le plus adapté selon la souche isolée.

4.3 Résistance aux antibiotiques

Selon **Méheust et al. (2016)**, l'antibiorésistance est un sujet de préoccupation majeur dans le domaine de la santé publique, tant en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine. La résistance aux antibiotiques est un terme relatif puisqu'il existe de nombreuses définitions en fonction du critère sur lequel on se base (génétique, biochimique, microbiologique ou clinique) (**Muylaert et al., 2012**). L'antibiorésistance désigne l'ensemble des stratégies d'adaptation mises en œuvre par les bactéries pour se prémunir contre les antibiotiques. Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en

présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées (**Muylaert and Mainil 2013**). En pratique, cela se traduit par une infection qui n'est pas traitée de manière appropriée (**D'Costa et al., 2011 ; Arquembourg, 2017 ; Savic, 2018**).

4.4 Types d'antibiorésistance

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

4.4.1 La résistance naturelle

La résistance innée ou intrinsèque bactérienne est codée dans le génome (principalement chromosomique) et demeure stable au sein du taxon. Il est tout à fait possible que ces souches n'aient jamais été exposées à l'antibiotique en question. Ainsi, la résistance est associée aux caractéristiques naturelles des bactéries (**Vittecoq et al. 2016, Veyssiere 2019**). Elle est stable et se transmet à la descendance (transmission verticale) lors de la mitose cellulaire. Il s'agit d'un critère d'identification constant pour une espèce et qui est partagé par toutes les bactéries de cette espèce (**Sabtu et al., 2015, Yao 2019**).

4.4.2 La résistance acquise

Contrairement à la résistance naturelle, la résistance acquise découle de changements dans le matériel génétique concerné. D'après **Buard (2013) et Sabtu et al. (2015)**, l'acquisition de résistance conduit à une résistance contre un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était préalablement sensible. Elle est caractérisée comme une propriété exclusive à certaines variantes bactériennes d'un genre ou d'une espèce particulière qui conduit à l'émergence et à la diffusion de résistances au sein de populations normalement sensibles aux germes (**Sabtu et al., 2015**). Deux phénomènes majeurs ayant conduit à l'acquisition de résistances suite à des modifications du génome bactérien ont été identifiés. Les mutations sont à l'origine des résistances endogènes, alors que les résistances exogènes résultent de l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger. Il existe aussi des défis résultant de la combinaison d'une mutation et d'un transfert horizontal de gène (**Guillemot et al., 2006, Martínez et Baquero, 2014**).

4.5 Mécanismes de résistance chez les entérobactéries

Les entérobactéries ont développé plusieurs mécanismes de résistance aux antibiotiques, leur permettant de survivre malgré les traitements. Ces mécanismes sont souvent codés par des gènes portés sur des plasmides, des transposons ou intégrons, facilitant leur dissémination.

- 1) Production de β -lactamases : enzymes capables d'hydrolyser l'anneau β -lactame des pénicillines et céphalosporines, rendant ces antibiotiques inactifs (**Papich et al., 2020 ; Jacoby, 2009**).
- 2) Modification de la cible : des mutations dans les gènes codant pour les ribosomes (pour les tétracyclines et macrolides) ou pour les enzymes comme la DNA gyrase (dans le cas des fluoroquinolones) réduisent l'affinité de l'antibiotique pour sa cible (**Kassem, 2019**).
- 3) Efflux actif : certaines bactéries possèdent des pompes à efflux, comme AcrAB-TolC, qui expulsent l'antibiotique hors de la cellule avant qu'il n'atteigne sa cible (**Nikaido, 2009**).
- 4) Diminution de la perméabilité membranaire : les entérobactéries peuvent modifier les porines de leur membrane externe, ce qui limite l'entrée des antibiotiques, notamment les β -lactamines (**Zgurskaya et al., 2015**).
- 5) Inactivation enzymatique non- β -lactamasique : par exemple, l'acétylation ou phosphorylation des aminosides les rend inactifs (**Ramirez & Tolmasky, 2010**).

Ces mécanismes peuvent coexister chez une même souche, rendant les traitements particulièrement difficiles.

4.6 Causes et facteurs favorisant l'antibiorésistance

La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries est influencée par divers facteurs, tant au niveau de l'usage des antibiotiques qu'au niveau de la gestion des élevages.

- 1) Usage excessif ou inapproprié des antibiotiques : L'administration d'antibiotiques sans diagnostic précis, ou à des doses inadaptées, favorise la sélection de souches résistantes (**Ventola, 2015**).
- 2) Automédication et absence d'antibiogramme : Le traitement sans identification préalable de l'agent pathogène peut mener à l'échec thérapeutique et à la persistance de bactéries résistantes (**Kassem, 2019**).

- 3) Mauvaises pratiques d'hygiène et de biosécurité : Le manque de propreté dans les élevages favorise la dissémination de bactéries résistantes entre les animaux **(Berghash et al., 2020)**.
- 4) Pression de sélection dans l'environnement : Les résidus d'antibiotiques dans l'environnement (lait, fumier, eau) favorisent la persistance et la diffusion des gènes de résistance **(Toutain, Ferran& Bousquet-Mélou, 2016)**.
- 5) Transmission horizontale des gènes de résistance : Les entérobactéries peuvent échanger des plasmides ou transposons porteurs de gènes de résistance, même entre espèces différentes **(Marshall & Levy, 2011)**.



PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE



OBJECTIFS ET METHODOLOGIE

4.7 Objectifs de l'étude

Les mammites subcliniques sont un véritable fléau dans nos élevages bovins laitiers, Les mammites subcliniques sont parmi les pathologies majeures liées à la production laitière bovine qui entraînent une perte de production considérable. Elle constitue une menace importante pour les producteurs laitiers, responsable de pertes économiques en termes de production de lait (quantité et qualité). Ils sont des affections multifactorielles complexes qui résultent de l'interaction de plusieurs agents infectieux sur la mamelle, une situation exacerbée par certaines méthodes d'élevage. La connaissance de la nature et la fréquence des germes responsables des mammites présentent un intérêt majeur pour définir une stratégie de lutte. Parmi les germes rencontrés, les entérobactéries viennent en tête des germes d'environnement et font actuellement une augmentation nette de la prévalence des mammites (**Oliver et al., 2011**) qui, par conséquent, devient un sérieux problème dans de nombreuses fermes laitières. Dans ce contexte l'objectif de cette étude a été de contribuer à l'actualisation des données épidémiologiques sur les mammites subclinique due aux entérobactéries en Algérie afin de proposer une stratégie efficace de lutte et de contrôle.

Les objectifs spécifiques assignés à cette étude sont :

- 1) évaluer la prévalence mammites subcliniques dans quelque élevage bovin laitier par un test CMT (Californian Mastitis Test) dans la wilaya d Ain-Temouchent,
- 2) Déterminer l'identité et la fréquence des entérobactéries responsables de ces infections
- 3) Évaluer la sensibilité aux antibiotiques in vitro de ces germes isolés de lait de mammite.

4.8 Présentation de la de la région d'étude

La présente étude a été faite au Nord-ouest Algérien, il s'agit de wilaya d'Ain Témouchent. La wilaya d'Ain Témouchent occupe une position stratégique dans l'ouest de l'Algérie, issue du découpage territorial de 1984. Elle est située au nord-ouest de l'Algérie, à 520 km de la capitale Alger et s'étend sur une superficie de l'ordre de 2 376,89 Km². Elle est composée de 8 Daïras (Aïn El Arbaa, Aïn Kihal, Aïn Témouchent, Beni Saf, El Amria, El Malah, Hammam Bou Hadjar, Oulhaça El Gheraba) et 28 communes. Elle est limitée : Au nord, par la mer Méditerranée et la wilaya d'Oran ; au sud, par les wilayas de Tlemcen et Sidi Bel Abbes ; à l'ouest, par la mer Méditerranée et la wilaya de Tlemcen et à l'est, par les wilayas d'Oran et Sidi Bel Abbes (figure1).

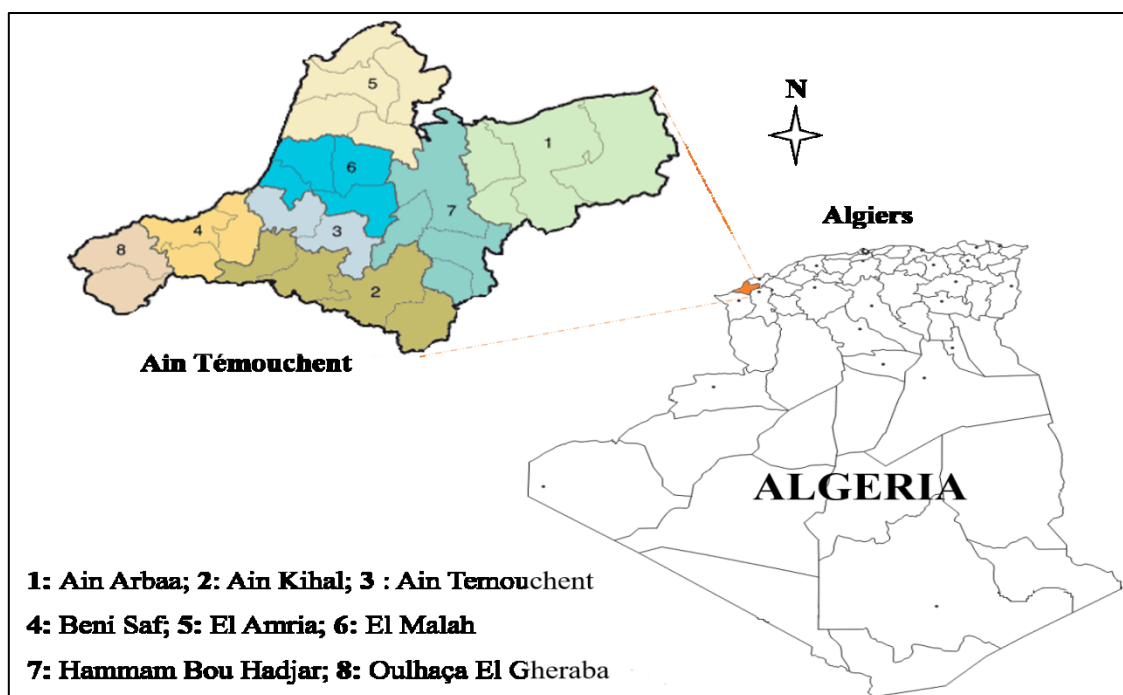


Figure 1: Carte géographique de la Wilaya d'Ain Témouchent (Gifex.com).

4.9 Dépistage des mammites subcliniques

Le California Mastitis Test (CMT) est également appelé test au teepol® ou Leucocytest. Malgré une sensibilité et une spécificité qui peuvent fluctuer, ce test est couramment utilisé du fait de son faible coût, de sa rapidité d'exécution et de la possibilité de le réaliser directement auprès de l'animal. Il facilite le diagnostic rapide des mammites subcliniques (M'sadak *et al.*, 2014, Srivastava *et al.*, 2015).

4.9.1 Principe et technique de réalisation

Le CMT repose sur l'utilisation d'un détergent tensioactif (solution de Teepol à 10 %) et d'un colorant indicateur (pourpre de bromocrésol) dans le lait. Ce tensioactif cause la destruction des cellules contenues dans le lait en dégradant les membranes et en libérant l'ADN, ce qui crée un maillage qui capture les globules de graisse et d'autres particules. Cela entraîne une augmentation de la viscosité du lait, pouvant même provoquer un flocculat dont l'ampleur et la densité dépendent de la concentration en cellules de l'échantillon de lait. Comme dans le test de pH avec du papier indicateur, l'indicateur coloré se modifie en couleur.

Selon les méthodes prescrites par Quin *et al.* (1994), le diagnostic de la mammite subclinique à l'aide du California Mastitis Test (CMT) a été effectué après un nettoyage grossier du pis chez les vaches en phase de lactation. En effet, pour chaque trayon, après

l'élimination des premiers jets de lait, une quantité adéquate de lait (2 ml) est prélevée dans la coupelle appropriée de la palette CMT, à laquelle on ajoute une dose identique du réactif CMT (2 ml de réactif RAIDEX). Ainsi, un mouvement circulaire délicat dans un plan horizontal est soumis à la palette pendant quelques secondes. Le résultat L'issue de la réaction indique le degré de détérioration des cellules somatiques et de coagulation des acides nucléiques. Ainsi, la positivité dépend du niveau de formation du gel et peut varier de +1 à +3, tandis que la négativité résulte d'un mélange qui reste inchangé. Si une vache montre au moins un quartier positif au CMT, même sans isolement de microorganismes, elle est considérée comme ayant une infection intra-mammaire.

4.9.2 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

4.10 Prélèvements et analyse microbiologique

4.10.1 Prélèvement des échantillons de lait

Nous avons mené notre recherche au sein de la wilaya d'Ain Témouchent. Nous avons visités huit exploitations laitières, localisées dans des régions distinctes. Le but premier de l'échantillonnage est de choisir un groupe d'élevages qui soit représentatif de tous les élevages

de la région visée. La compétence de l'opérateur et la qualité de l'échantillonnage sont essentielles pour l'analyse bactériologique des laits atteints de mammite. Les vaches en lactation ont été soumises à un CMT individuel par quartier au début de la traite. Tout quartier qui présente un score au CMT supérieur ou égal à 2 a été prélevé pour les analyses bactériologiques. La collecte de lait à partir des mamelles des vaches est effectuée dans des conditions d'hygiène strictes, avec du matériel stérile, vêtements propres et adaptés, gants à usage unique, pots stériles de 20 ml, etc. La mamelle de la vache a été soigneusement nettoyée à l'aide d'un désinfectant et essuyée, Une fois les premières tentatives écartées, le bouchon est ôté. Par conséquent, les ouvertures du couple, du tube et du bouchon sont dirigées vers le bas, ce qui empêche toute contamination. Une fois que le trayon est pris en main droite, il est repositionné sur le côté pour être traité presque de manière horizontale dans le flacon d'échantillonnage.

Quand le lait éclabousse, il est positionné en biais entre le pouce et l'index de la main gauche, avec un bouchon tenu par l'index et le majeur dirigés vers le bas. Au final, on referme le flacon, 47 échantillons ont été prélevés. Suite à la collecte, les échantillons ont été stockés dans une glacière à 4° afin de les préserver. Ils ont ensuite été rapidement acheminés vers le laboratoire pour analyse (figure 2).

Chaque échantillon a été marqué de manière explicite et précise, indiquant l'endroit de collecte et le numéro d'identification de la vache.



Figure 2: Les échantillons du lait prélevés

4.10.2 Analyse microbiologique

On a effectué l'étude bactériologique au laboratoire pédagogique de microbiologie de l'université d'Ain-Temouchent. Les tests microbiologiques sont effectués sur les échantillons présentant un CMT positif.

4.10.2.1 Enrichissement

Les milieux d'enrichissement sont utilisés pour stimuler la prolifération bactérienne à partir des échantillons prélevés. Il s'agit généralement de milieux liquides nutritifs qui favorisent la prolifération d'un grand nombre de bactéries. Le Brain-Heart Infusion Broth (BHIB), un milieu nutritif tamponné parmi les plus couramment utilisés, est employé pour cultiver une vaste gamme de microorganismes aérobies ou anaérobies, y compris des levures et des moisissures. Nous avons prélevé une petite quantité de lait cru (2 ml) à l'aide d'une seringue jetable dans un environnement stérile, puis nous l'avons placé dans des tubes identifiés par le numéro de chaque vache et contenant du bouillon BHIB (8 ml). Ensuite, les tubes ont été agités dans le vortex et incubés à 37°C pendant 24h (figure 3).

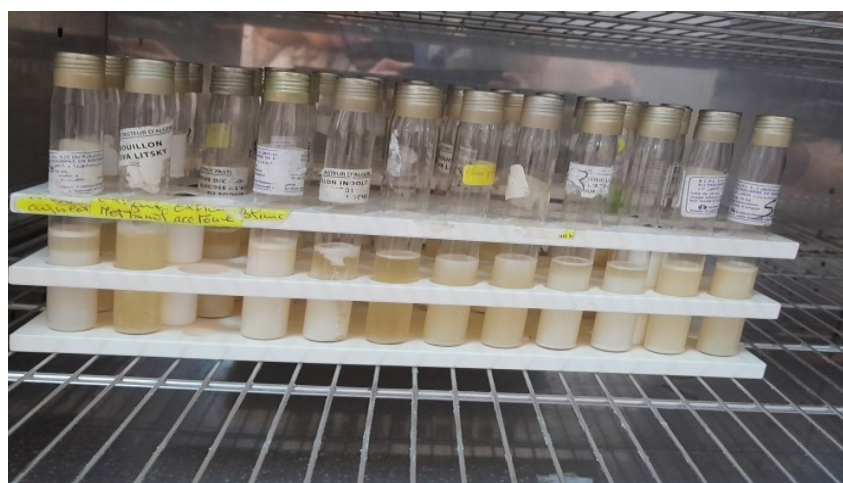


Figure 3: réalisation d'enrichissement

4.10.2.2 Ensemencement

Suite à une incubation de 24 heures dans les milieux d'enrichissement BHIB, nous avons récupéré 0,1 ml (après homogénéisation au vortex pendant quelques secondes) de la suspension bactérienne de chaque tube d'enrichissement en utilisant une pipette graduée stérile. Celle-ci est ensuite ensemencée sur la gélose MacKonkey. Les boîtes ensemencées sont ensuite incubées à une température de 37 °C pendant 24h.

4.10.3 Identifications des germes (*Escherichia. Coli* et *Klebsiella pneumoniae*)

Afin d'identifier précisément les souches bactériennes isolées sur le milieu de culture sélectif de MacConkey, à savoir *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, une démarche analytique combinant des approches morphologiques et biochimiques a été entreprise. Cette stratégie d'identification repose sur l'examen macroscopique et microscopique des colonies, ainsi que sur la réalisation de tests biochimiques spécifiques permettant de caractériser le métabolisme et les propriétés enzymatiques de ces micro-organismes.

4.10.3.1 Identification morphologique

L'identification morphologique a été réalisée en deux étapes complémentaires : l'examen macroscopique des colonies et l'examen microscopique des cellules bactériennes.

4.10.3.1.1 Examen macroscopique

L'observation macroscopique des colonies cultivées sur gélose MacConkey a fourni des indications préliminaires cruciales quant à leur taille, leur forme et leur coloration

(Joffinet Leyral, 2001). la capacité d'une bactérie à fermenter le lactose influence l'aspect de ses colonies sur ce milieu sélectif. Les colonies d'*E.coli*, présentant une fermentation du lactose, se sont révélées de couleur rose, de forme circulaire et convexe, avec une surface lisse et légèrement brillante, et une taille relativement homogène et moyenne. Ces caractéristiques macroscopiques constituent un premier niveau d'orientation dans le processus d'identification.

4.10.3.1.2 Examen microscopique

L'examen microscopique a permis une analyse plus approfondie de la structure et de la morphologie des cellules bactériennes individuelles. Cette étape a inclus l'observation d'échantillons non colorés (examen à l'état frais) et d'échantillons soumis à des techniques de coloration spécifiques, notamment la coloration de Gram.

4.10.3.1.3 Examen direct à l'état frais

L'examen à l'état frais a été réalisé dans le but de mettre en évidence la présence et la motilité des micro-organismes au sein de l'échantillon. Cette technique rapide et simple permet la visualisation des bactéries dans leur état natif, sans altération de leur morphologie

ou de leur structure cellulaire. La mobilité bactérienne, définie par le déplacement actif d'au moins un élément bactérien à travers le champ microscopique, a pu être appréciée grâce à cette méthode. La procédure expérimentale a consisté à déposer une goutte d'eau distillée stérile sur une lame propre, suivie du dépôt et de l'étalement d'une faible quantité de culture bactérienne prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile. Le frottis ainsi obtenu a été recouvert d'une lamelle, dont les bords ont été séchés à l'aide de papier filtre stérile. L'observation a été effectuée initialement à l'objectif 40x, puis à l'objectif à immersion (100x).

✓ **Test de coloration de Gram**

La coloration de Gram, technique microbiologique fondamentale, a été appliquée pour différencier les bactéries en deux groupes principaux : Gram positif et Gram négatif, en se basant sur les propriétés de leur paroi cellulaire. Le protocole suivi a consisté en la préparation d'un frottis bactérien fixé à la chaleur sur une lame préalablement désinfectée. Un fragment de colonie bactérienne a été prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, déposé et étalé sur la lame, puis séché à la flamme. La coloration a été réalisée séquentiellement : application de quelques gouttes de solution de violet de gentiane pendant 1 minute (coloration primaire du cytoplasme en violet), suivie d'un rinçage à l'eau distillée et d'une fixation de la coloration par l'application de lugol pendant 20 secondes. Après élimination du lugol et rinçage, une décoloration à l'éthanol a été effectuée jusqu'à absence de couleur (5-10 secondes), suivie d'un rinçage. Une coloration secondaire (contre-coloration) a été réalisée par l'application de fuchsine (rose) pendant 1 minute. Le frottis a ensuite été rincé et séché à l'air libre. L'observation finale a nécessité l'ajout d'une goutte d'huile à immersion sur le frottis et l'examen au microscope avec un grossissement de 100x.

4.10.3.2 Identification biochimique

Bien que l'isolement et la différenciation sur milieux sélectifs fournissent des indications précieuses, ils ne suffisent pas à confirmer définitivement l'identification au niveau du genre. Une identification bactérienne fiable et précise requiert généralement le recours à des galeries biochimiques standardisées (telles que les galeries API) ou à des méthodes d'identification moléculaire. Les tests biochimiques jouent un rôle fondamental dans la caractérisation des micro-organismes, en révélant leurs propriétés métaboliques et enzymatiques distinctives. Ces tests permettent de différencier les bactéries en fonction de leurs voies métaboliques, de leur type respiratoire, de la présence d'enzymes spécifiques et de

leur réaction à divers substrats. Dans le cadre de cette étude, et en dépit de certaines limitations matérielles et de disponibilité des milieux de culture, plusieurs tests biochimiques classiques ont été réalisés, incluant :

4.10.3.2.1 Tests d'identification biochimique

Afin de caractériser le profil métabolique des souches bactériennes isolées, une batterie de tests biochimiques a été mise en œuvre. Ces tests sont essentiels pour déterminer la présence d'enzymes spécifiques et les capacités métaboliques des micro-organismes, contribuant ainsi à leur identification précise.

✓ Test de la catalase

Le test de la catalase constitue une analyse biochimique fondamentale dans l'identification microbiologique. Il vise à déterminer la capacité d'une bactérie à produire l'enzyme catalase, laquelle catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), un agent oxydant potentiellement toxique pour la cellule bactérienne, en eau (H_2O) et en dioxygène (O_2). La réaction enzymatique se manifeste par une effervescence rapide due à la production d'oxygène gazeux. La procédure expérimentale implique les étapes suivantes :

- 1) Le dépôt d'une goutte de solution de peroxyde d'hydrogène sur une lame de microscope.
- 2) Le prélèvement d'une colonie bactérienne à l'aide d'une anse bactériologique.
- 3) La dispersion de la colonie dans la goutte de peroxyde d'hydrogène.
- 4) L'observation macroscopique immédiate de la formation de bulles d'oxygène.
La présence de bulles indique une activité catalase positive (Catalase +), tandis que leur absence signale une activité catalase négative (Catalase -).

✓ Test oxydase

Le test oxydase est un outil diagnostique utilisé pour détecter la présence de l'enzyme cytochrome c oxydase au sein des micro-organismes. Développé initialement pour la différenciation interspécifique (**RuanBenfang et RuanJiannifu, 2017**), ce test repose sur l'utilisation de disques de papier absorbant imprégnés de N, N, N', N'-Tétraméthyl-p-phénylènediaminedihydrochlorure. En présence de cytochrome c oxydase, ce composé incolore subit une oxydation, formant un dérivé coloré en bleu violacé. La méthodologie comprend les étapes suivantes :

- 1) Le placement d'un disque oxydase sur une lame porte-objet à l'aide de pinces stériles.
- 2) La sélection d'une colonie bactérienne bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester.
- 3) Le prélèvement de la colonie à l'aide d'une anse de platine.
- 4) Le frottement délicat de la colonie sur la surface du disque oxydase.
- 5) L'observation de l'apparition d'une coloration violette dans un délai de 30 secondes, indiquant une activité oxydase positive.

✓ **Test de TSI (Triple SugarIron)**

Le métabolisme des glucides chez les bactéries est évalué par divers tests, dont le test TSI. Il s'agit d'un test biochimique utilisé pour l'identification des bactéries Gram négatif, basé sur leur capacité à fermenter trois sucres (glucose, saccharose et lactose), ainsi qu'à produire du gaz et du sulfure d'hydrogène (H₂S). Le milieu de culture solide TSI contient ces trois sucres, un indicateur de pH (rouge de phénol) et du thiosulfate de sodium (pour la détection de H₂S). La procédure d'inoculation et d'incubation est la suivante :

- 1) Les colonies à tester sont prélevées et une suspension bactérienne est préparée dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile.
- 2) À l'aide d'une anse stérile, un échantillon d'inoculum est prélevé et ensemencé par stries serrées sur la surface inclinée du milieu TSI, suivi d'une piqûre centrale atteignant le culot du tube.
- 3) Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

La lecture des résultats s'effectue par l'observation des changements de couleur du milieu, de la production de gaz et de la formation de précipités :

- ✓ Culture glucose positive : Le culot devient jaune, indiquant la fermentation du glucose.
- ✓ Culture glucose négative : Le culot reste inchangé.
- ✓ Culture lactose positive : La pente vire au jaune, signalant la fermentation du lactose.
- ✓ Culture lactose négative : La pente reste alcaline (rouge groseille).
- ✓ Culture saccharose positive : La pente vire au jaune, indiquant la fermentation du saccharose.
- ✓ Culture saccharose négative : La pente reste alcaline.

- ✓ Culture H₂S positive : Un noircissement du milieu est observé dans la zone de jonction entre la pente et le culot, indiquant la production de sulfure d'hydrogène.
- ✓ Production de gaz : La présence de bulles d'air, de bulles dispersées dans la masse du milieu, de bulles contre les parois du tube, ou de poches gazeuses décollant le culot est notée.

❖ **Test de citrate de Simmons**

La gélose citrate de Simmons est un milieu de culture en tube utilisé pour la différenciation des bactéries Gram négatif en fonction de leur capacité à utiliser le citrate comme unique source de carbone. L'ensemencement du milieu est réalisé par des stries longitudinales à l'aide d'une anse de platine, à partir d'une suspension bactérienne. Il est impératif de ne pas visser le bouchon à fond afin de permettre les échanges gazeux durant l'incubation à 37°C pendant 24 heures. La lecture des résultats s'effectue comme suit :

- Citrate de Simmons positif (+): Un virage de l'indicateur de pH au bleu indique une alcalinisation du milieu due à l'utilisation du citrate.
- Citrate de Simmons négatif (-): L'absence de virage de l'indicateur de pH et l'absence de croissance visible signalent l'incapacité de la souche à utiliser le citrate.

❖ **Test d'Urée-Indole**

Le milieu urée-indole, également désigné milieu urée-tryptophane, est un milieu synthétique complexe permettant l'évaluation simultanée de trois activités enzymatiques importantes pour l'identification des entérobactéries : l'uréase, la tryptophane désaminase (TDA), et la production d'indole via la tryptophanase. Ce milieu contient de l'urée comme seule source de carbone et du tryptophane. L'ensemencement est effectué par inoculation directe dans le tube urée-indole, suivi d'une incubation à 37°C pendant 24 heures. La lecture des résultats s'effectue comme suit :

- Recherche de l'uréase : Les entérobactéries possédant une uréase sont capables d'hydrolyser l'urée, l'utilisant comme source d'azote. Un milieu devenant rouge (basique) indique une uréase positive (+), tandis qu'un milieu restant orange ou jaune indique une uréase négative (-).
- Recherche de l'indole : Certaines bactéries dégradent le tryptophane en indole, acide pyruvique et ammoniac grâce à la tryptophanase. Après l'incubation, l'ajout de trois gouttes de réactif de Kovacs révèle la présence d'indole par la formation d'un anneau

rouge à la surface du milieu (indole +). L'absence d'anneau rouge et le maintien d'une coloration jaune indiquent un résultat indole négatif (-).

4.10.3.3 Antibiogramme des souches isolées

Pour évaluer la sensibilité d'*E. Coli* et *Klebsiella pneumoniae* aux divers agents antibactériens, la méthode de l'antibiogramme par diffusion sur gélose Muller Hinton (technique des disques) a été employée. Cette méthode, couramment adoptée pour l'étude de l'action des antibiotiques sur la croissance bactérienne, a été mise en œuvre selon une procédure qui a consisté en la préparation de l'inoculum bactérien, son ensemencement sur le milieu de culture approprié (coulé en boîtes de Pétri à une épaisseur de 4 mm et préalablement séché), l'application des disques d'antibiotiques, l'incubation des boîtes de Pétri, suivie de la lecture et de l'interprétation des résultats obtenus.

❖ Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture pure âgée de 18 à 24 heures sur le milieu d'isolement approprié, quelques colonies bien isolées et morphologiquement identiques ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette Pasteur. Ces colonies ont été dispersées dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%, et la suspension bactérienne a été homogénéisée jusqu'à l'obtention d'une turbidité correspondant à l'échelle 0.5 de MacFarland, équivalant à une concentration bactérienne d'environ 10⁶ UFC/ml.

❖ Ensemencement, application des disques et incubation

Un écouvillon stérile a été immergé dans l'inoculum bactérien, puis l'excès de liquide a été éliminé par pression et rotation contre la paroi interne du tube. La surface de la gélose Muller-Hinton a été ensemencée par un étalement uniforme en stries serrées, en pivotant la boîte de Petri de 60° entre chaque passage et en veillant à couvrir toute la surface, y compris la périphérie. Pour chaque souche, deux boîtes de Petri ont été ensemencées, en rechargeant l'écouvillon à chaque application. Les disques d'antibiotiques (ATB) ont été déposés aseptiquement sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince bactériologique stérile, en respectant une distance minimale de 30 mm entre les disques afin d'éviter le chevauchement des zones d'inhibition. Pour favoriser une pré-diffusion des antibiotiques à partir des disques, les boîtes ensemencées ont été laissées à température ambiante pendant 15 minutes avant d'être incubées à 37°C pendant 24 heures.

❖ Lecture et interprétation des résultats

Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne autour de chaque disque d'antibiotique ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse, par transparence à travers le fond de la boîte de Petri. Les valeurs obtenues ont permis de classer les souches comme Sensibles (S), Intermédiaires (I) ou Résistantes (R) aux antibiotiques testés, conformément aux recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (EUCAST/CA-SFM, 2018). Les souches présentant une résistance intermédiaire ont été catégorisées comme résistantes pour l'analyse des résultats.



RESULTATS ET DISCUSSION

5 Résultats

5.1 Prévalence des mammites subclinique dans la région d'Ain-Temouchent

Sur 162 vaches dépistés ; 29,01 % ont donné des résultats de CMT positifs ($CMT \geq 2$) et 70,98 % de négatifs ($CMT=0$) (Figure4).

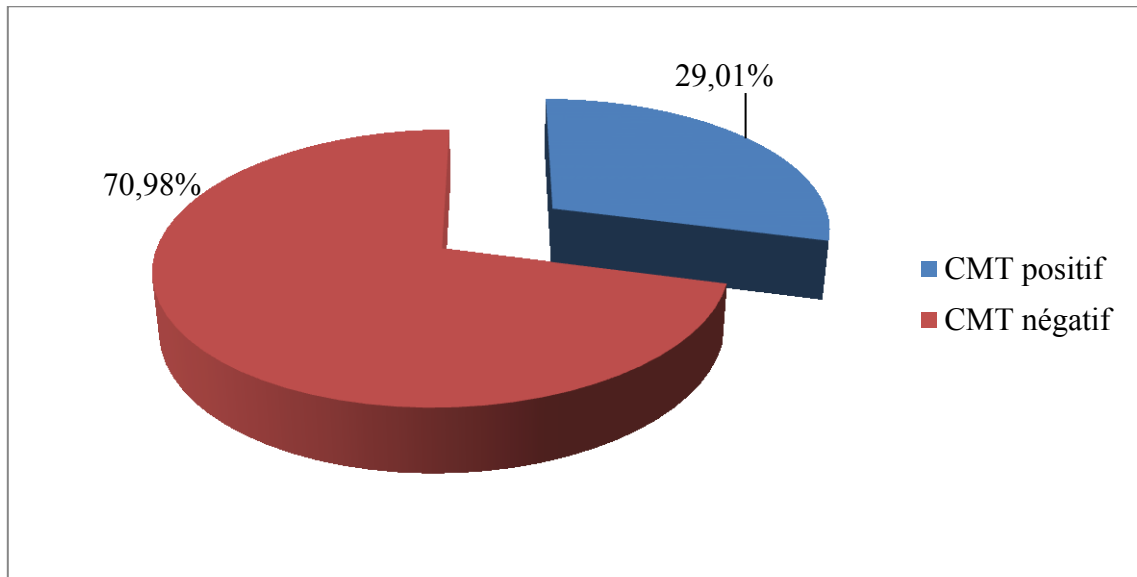


Figure 4: Prévalence des mammites subclinique dans la région d'Ain-Temouchent

5.2 Résultats des analyses bactériologiques :

5.2.1 Prévalence des Entérobactéries isolées de mammites subcliniques

Les examens bactériologiques a été effectuées sur les 47 échantillons de lait de mélange provenant de vaches positives au C.M.T ($CMT > 2$). Au vu des résultats d'analyses bactériologiques, nous constatons que les Entérobactéries les plus fréquemment responsables des mammites cliniques sont : *Escherichia coli*, isolée dans 19, 13% des échantillons, *Klebsiella pneumonie*, isolé dans 6,05% des prélèvements (Figure 5).

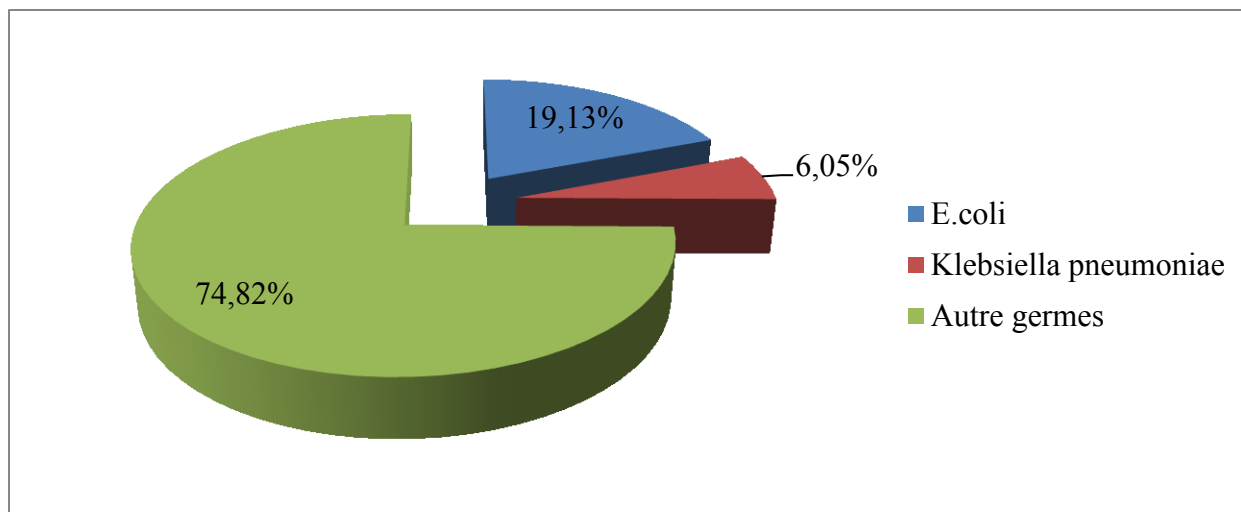


Figure 5: Prévalence des Entérobactéries isolées de mammites subcliniques

5.2.2 Résultats des antibiogrammes

Les tableaux 4 et 5 présentent les profils de sensibilité aux antibiotiques des deux espèces bactériennes : *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Ils répertorient les antibiotiques testés, la concentration (charge) de chaque disque d'antibiotique utilisé lors du test, et le pourcentage d'isolats qui se sont révélés sensibles et résistants à chaque antibiotique. Ces données sont cruciales pour comprendre l'efficacité des différents antibiotiques dans le traitement des mammites causées par ces bactéries et pour identifier les schémas potentiels de résistance.

5.2.2.1 Profil de sensibilité aux antibiotiques d'*E. Coli*

Le tableau 4 indique le pourcentage d'isolats d'*E. coli* qui étaient sensibles et résistants à un ensemble de 12 antibiotiques. Les antibiotiques représentent différentes classes, notamment les bêta-lactamines (par exemple, l'amoxicilline, l'ampicilline, le céfotaxime), les aminoglycosides (par exemple, la kanamycine, la streptomycine), les tétracyclines, les quinolones (par exemple, l'ofloxacine, l'acide nalidixique) et autres (par exemple, le chloramphénicol, le triméthoprime-sulfaméthoxazole, la colistine sulfate). La charge du disque d'antibiotique est spécifiée en microgrammes (μg), indiquant la quantité d'antibiotique utilisée dans le test de diffusion sur disque.

L'étude de l'activité antibactérienne des antibiotiques vis-à-vis l' *E. coli*, nous a révélé :

- ✓ **Forte résistance aux bêta-lactamines** : Un pourcentage notablement élevé d'isolats d'*E. coli* a présenté une résistance à l'amoxicilline (84 %), à l'ampicilline (85 %) et à

l'association d'amoxicilline avec l'acide clavulanique (75 %). Il s'agit d'une observation significative, car les bêta-lactamines sont couramment utilisées pour traiter les infections bactériennes. Les taux élevés de résistance suggèrent que ces antibiotiques pourraient perdre de leur efficacité contre *E. coli* causant des mammites dans la région.

- ✓ **Efficacité du céfotaxime, du chloramphénicol et du triméthoprime-sulfaméthoxazole** : En revanche, le céfotaxime, le chloramphénicol et le triméthoprime-sulfaméthoxazole ont montré des taux de sensibilité élevés (97 %, 98 % et 98 %, respectivement), ce qui indique que ces antibiotiques pourraient encore être des options de traitement efficaces pour les mammites à *E. coli*.
- ✓ **Sensibilité complète à la colistine sulfate** : La colistine sulfate a démontré une sensibilité de 100 %, ce qui suggère qu'elle reste un antibiotique très efficace contre les isolats d'*E. coli* testés. La colistine est souvent considérée comme un antibiotique de dernier recours en raison de sa toxicité potentielle, et son efficacité doit être interprétée avec prudence.
- ✓ **Résistance modérée à d'autres antibiotiques** : Une résistance a également été observée pour d'autres classes d'antibiotiques, telles que la tétracycline (75 %), l'ofloxacine (75 %) et la streptomycine (45 %), ce qui met en évidence la présence de souches d'*E. coli* multirésistantes.

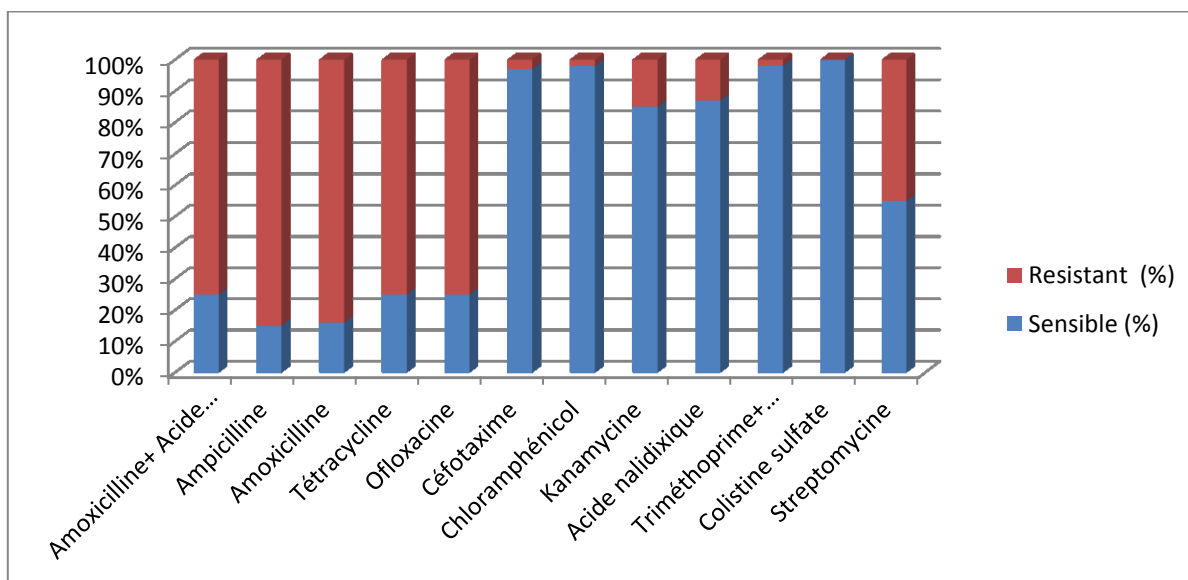


Figure 6: Profil de sensibilité aux antibiotiques d'*E. Coli*

Tableau 3: Profil de sensibilité des *E. coli* vis-à-vis les antibiotiques

Antibiotiques	Charge du disque	Sensible (%)	Resistant (%)
Amoxicilline+ Acide clavulanique	20/10 µg	25,00%	75,00%
Ampicilline	10 µg	15,00%	85,00%
Amoxicilline	30 µg	16,00%	84,00%
Tétracycline	30 µg	25,00%	75,00%
Ofloxacin	5 µg	25,00%	75,00%
Céfotaxime	30 µg	97,00%	3,00%
Chloramphénicol	30 µg	98,00%	2,00%
Kanamycine	30 µg	85,00%	15,00%
Acide nalidixique	30 µg	87,00%	13,00%
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	25 µg	98,00%	2,00%
Colistine sulfate	10 µg	100,00%	0,00%
Streptomycine	10 µg	55,00%	45,00%

5.2.2.2 Profil de sensibilité des *Klebsiella pneumoniae* vis à vis les antibiotiques

Les résultats obtenus tableau 5 de la présente étude ont révélé une grande variation de la sensibilité aux antibiotiques testés. Les souches de *Klebsiella pneumoniae* ont montré :

- ✓ **Très forte résistance à l'ampicilline et à l'amoxicilline :** *Klebsiella pneumoniae* a présenté des taux de résistance très élevés à l'ampicilline (95,5 %) et à l'amoxicilline (89 %), encore plus élevés que ceux observés pour *E. coli*. Cela indique un défi important dans le traitement des mammites à *Klebsiella* avec ces antibiotiques couramment utilisés.
- ✓ **Forte sensibilité au céfotaxime, au triméthoprime-sulfaméthoxazole et à l'ofloxacin :** Semblable à *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* a montré une forte sensibilité au céfotaxime (98 %), au triméthoprime-sulfaméthoxazole (98 %) et à l'ofloxacin (95 %), ce qui suggère que ceux-ci pourraient être des options thérapeutiques viables.
- ✓ **Résistance variable à d'autres antibiotiques :** La résistance à d'autres antibiotiques était variable, avec 75 % de résistance à la tétracycline, 26 % à la kanamycine et 15 % au chloramphénicol.
- ✓ **Résistance à la colistine sulfate :** Il est important de noter que, contrairement à *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* a montré une certaine résistance (5%) à la colistine sulfate.

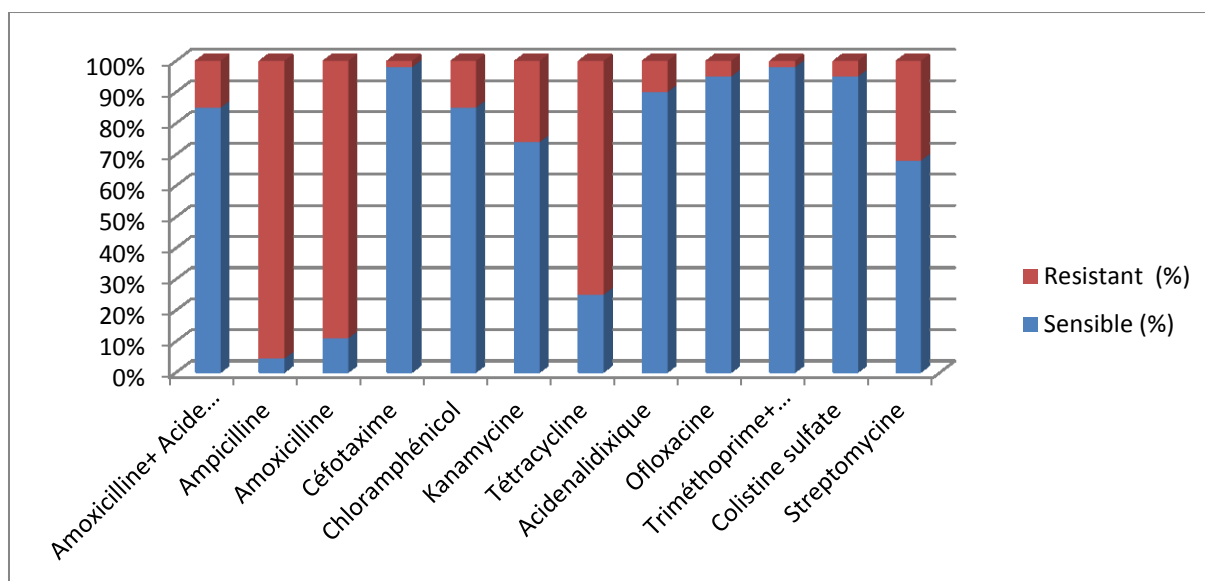


Figure 7: Profil de sensibilité des *Klebsiella pneumoniae* vis à vis les antibiotiques

Tableau 4: Profil de sensibilité des *Klebsiella pneumoniae* vis à vis les antibiotiques

Antibiotiques	Charge du disque	Sensible (%)	Résistant (%)
Amoxicilline+ Acide clavulanique	20/10 µg	85,00%	15,00%
Ampicilline	10 µg	04,50%	95,50%
Amoxicilline	30 µg	11,00%	89,00%
Céfotaxime	30 µg	98,00%	2,00%
Chloramphénicol	30 µg	85,00%	15,00%
Kanamycine	30 µg	74,00%	26,00%
Tétracycline	30 µg	25,00%	75,00%
Acide nalidixique	30 µg	90,00%	10,00%
Ofloxacine	5 µg	95,00%	5,00%
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	25 µg	98,00%	2,00%
Colistine sulfate	10 µg	95,00%	5,00%
Streptomycine	10 µg	68,00%	32,00%

6 Discussions

Les mammites subcliniques représentent un défi majeur pour l'industrie laitière mondiale, étant parmi les affections les plus courantes et les plus coûteuses pour les producteurs de lait. En Algérie, les études sur la prévalence des mammites subcliniques sont limitées. Bien que la fréquence des mammites chez les vaches diffère selon les études, notre

recherche dans la région d'Ain Témouchent a montré une prévalence de mammites subcliniques de 29,01 %. Nos résultats sont inférieurs de ceux obtenus par **(Zaatout et al 2019)** en mettant en évidence une prévalence de 37,6 % de mammites subcliniques dans le Nord-Est de l'Algérie grâce à l'application du CMT. Une étude menée dans la région de Tiaret a rapporté une prévalence de 38,5 % chez les vaches laitières, détectée par le test CMT **(Bouزيد et al., 2019)**. Une autre recherche dans la région de Sétif a trouvé une prévalence de 35 % **(Kebir et al., 2017)**. Ces résultats suggèrent que la prévalence observée à Ain Témouchent est légèrement inférieure à celle rapportée dans d'autres régions du pays. une étude dans le Nord-Est algérien **Bouزيد et al. (2011)** ont rapporté un taux de CMT positifs de 29,7 %, ce qui est très similaire à notre observation. La fréquence des mammites subcliniques est inférieure aussi à celle rapportée dans le centre de l'Algérie (66,4 %) **(Ghalache et al., 2021)**, et dans ouest d'Algérie (62,8%) **(Meskinietal., 2021)**.Cependant, elle est élevée par rapport aux résultats obtenus par **Saidi et al (2013)** dans le centre d'Algérie soit 28.77%, au Sri Lanka 27.3% **(Ranasinghe et al., 2023)**.Au Sri Lanka 49% **(Rahularaj et al., 2019)**,en Tunisie **(M'Sadek et al.,2014)** 34%, au Népal (42.8%) **(Bhandari et al., 2021)**, au Bangladesh 64,9% **(Hoque et al., 2014)**, dans les zones périurbaines de Kigali au Rwanda (76.2%) **(Ndahetuye et al., 2019)**. Il est observé que les données relatives à la prévalence des mammites subcliniques varient d'une étude à l'autre. Cette variation peut être due à l'utilisation de différentes méthodologies de diagnostic pour les mammites subcliniques (telles que l'examen bactériologique, le test de la concentration en cellules somatiques et le CMT) et aux incohérences dans la définition de l'infection entre les auteurs **(Bouaziz, 2005)**. En plus, les variations de la prévalence des mammites bovines entre les études peuvent être attribuées aux différences de gestion des élevages, d'environnement et de méthodes de diagnostic, ainsi qu'au niveau d'hygiène des bâtiments. Dans de nombreux élevages, l'hygiène de la traite était insuffisante, avec un lavage des trayons négligé (lavette collective, eau seule, pas d'essuyage) et l'élimination des premiers jets sur le sol, ce qui contamine les aires de couchage.

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 19,13% des germes isolés de lait issus de mammites subclinique. La littérature scientifique révèle une prévalence des coliformes dans les mammites subcliniques allant de 20 % à 80 % des cas **(Blum et al., 2017)**. Nos résultats révèlent une prévalence supérieure à celle observée dans diverses études menées à l'échelle mondiale, une prévalence de 6,5 % a été trouvé 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) et au Sri Lanka (8.8%) (Ranasinghe et al., 2023). Par contre, Il est intéressant de noter que la prévalence d'*E. coli* identifiée dans notre travail est inférieure à celle mise en évidence par des recherches récentes conduites en Algérie (26%) (Tahar et al., 2020 ; Ghallache et al., 2021) ou une étude en Éthiopie (27,3%) (Haftu et al., 2012), et inférieure aussi à la prévalence constatée en Tunisie (31,7%) (Saidani et al., 2018), au Népal (38.5%) (Bhandari et al., 2021) et en Arabie Saudia (35.8%) (Md.AbdusSattarBaget et al., 2021). La fréquence des isolations d'*E. coli* dans notre étude peut être attribuée aux conditions d'hygiène des animaux et de leur environnement. Une propreté insuffisante de l'arrière-train et des mamelles, souvent souillées, favorise la contamination bactérienne. Bien que cet agent soit plus communément associé aux mammites cliniques, un mauvais entretien de la litière, une hygiène déficiente de la stabulation et des animaux en général peuvent expliquer une prévalence élevée d'*E. coli*. Comme l'ont souligné Magnusson et ses collaborateurs (2007), des litières fortement contaminées constituent un réservoir significatif de coliformes. Cette situation augmente le risque de contamination des trayons et, par conséquent, la prévalence des mammites, suggérant un lien direct entre l'hygiène environnementale et l'incidence de cette infection.

Les investigations menées ont systématiquement mis en évidence la prédominance d'*Escherichia coli* parmi les entérobactéries isolées, avec *Klebsiella pneumoniae* identifiée comme la seconde espèce la plus fréquemment rencontrée, une tendance confirmée par de multiples publications scientifiques (Ahmanach et kaci, 2019 ; Slimi et Boucefiane, 2019). Au Maroc, une étude a documenté qu'*Escherichia coli* représentait une proportion dominante des isolats (80 %), avec *Klebsiella pneumoniae* étant la deuxième espèce la plus fréquemment isolée (10 %) (Lahlou et al., 2009). En Tunisie, *Escherichia coli* a également été identifiée comme l'espèce dominante, avec un pourcentage de 81,7 %, un taux plus élevé que celui observé dans d'autres contextes. *Klebsiella pneumoniae* venait en deuxième position, représentant 3,7 % des isolats (Péan et al., 2001).

Au sein des agents pathogènes responsables de cette maladie complexe, les entérobactéries, et plus spécifiquement *Klebsiella pneumoniae*, gagnent en reconnaissance et en importance dans l'étiologie des mammites (Cameron et al., 2022). Bien que les pathogènes contagieux comme *Staphylococcus aureus* et les streptocoques aient longtemps été au premier plan, l'incidence croissante des mammites environnementales, souvent causées

par des entérobactéries, est une préoccupation majeure, en particulier pour les formes cliniques aiguës et graves (**Hogan et Smith, 2020**). Notre étude a identifié *Klebsiella pneumoniae* dans 6,05% des prélèvements de mammites cliniques, ce qui souligne son rôle non négligeable dans la pathologie mammaire dans la région étudiée. Notre résultat s'inscrit dans la fourchette des données internationales, tout en étant parfois plus élevé ou plus faible que des observations spécifiques. À l'échelle nationale, la littérature algérienne sur la prévalence spécifique de *K. pneumoniae* dans les mammites bovines est moins abondante, mais des études sur les entérobactéries montrent une prévalence de *Klebsiell aspp.* fluctuant. Par exemple, une étude réalisée dans la région de Tizi-Ouzou (Algérie) a rapporté une prévalence de *Klebsiella spp.* de 5,5% parmi les isolats de mammites (**OuledHamou et al., 2020**), un chiffre légèrement inférieur à notre résultat. Une autre étude plus générale sur les mammites en Algérie a identifié *Klebsiella spp.* comme un agent pathogène dans 8,1% des cas de mammites cliniques (**Benzerti et al., 2019**), suggérant une variabilité régionale. Sur le plan international, les données sont également diverses ; une revue systématique mondiale a rapporté une prévalence globale regroupée de *Klebsiellaspp.* de 7,95%, tandis qu'une étude en Éthiopie a isolé *K. pneumoniae* dans 9,5% des échantillons de lait de mammite (**Ayele et al., 2025**). Inversement, des travaux en Turquie ont trouvé une prévalence de 2,9% de *K. pneumoniae* dans les élevages laitiers (**Yilmaz et al., 2022**), et au Danemark, un taux de 3,5% a été noté (**Jensen et al., 2021**). Ces variations sont attribuables à des facteurs complexes incluant l'environnement d'élevage, la gestion des litières, les pratiques d'hygiène, la taille des troupeaux et l'utilisation antérieure des antibiotiques.

Bien que les thérapies antibiotiques aient changé l'approche du traitement de la mammite chez les vaches, leur automatisation a malheureusement conduit à une augmentation de la résistance antimicrobienne des pathogènes. La résistance des bactéries, particulièrement des entérobactéries aux antibiotiques, constitue un véritable problème de santé publique. Cette résistance, affecte aussi bien les pays développés que surtout les pays en voie de développement où cohabitent l'automédication et la vente anarchique des médicaments en dehors des structures légales (**Aminov, 2010**). L'objectif général de cette étude est de déterminer la sensibilité aux antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des mammites de la vache des souches *E. Coli* et souche *Klebsiella pneumoniae* isolées de laits de mammites, afin de disposer des données sur l'efficacité potentielle des antibiotiques disponibles sur le marché. Les résultats démontrent une variation significative de la résistance face aux divers antibiotiques examinés. Un consensus existe parmi de nombreux chercheurs selon lequel

l'utilisation des antibiotiques chez les animaux, qu'elle soit thérapeutique, prophylactique ou liée à la croissance, peut réduire l'efficacité de ces produits tant en médecine vétérinaire qu'humaine, du fait de l'expansion des souches résistantes.

La forte résistance aux bêta-lactamines est une préoccupation majeure, qui complique potentiellement le traitement des mammites à *E.coli*. Un pourcentage notablement élevé d'isolats d'*E. coli* a présenté une résistance à l'amoxicilline (84 %), à l'ampicilline (85 %) et à l'association d'amoxicilline avec l'acide clavulanique (75 %). Des résultats similaires ont été enregistrés au Maroc (**Yassine et al., 2020**). Nos résultats sont similaires aux conclusions des études précédentes, menées en Algérie ainsi que dans d'autres pays (**Saidi et al., 2014 ; Ameen et al., 2019 ; Sedrati et al 2021**).

On a évalué la sensibilité des souches d'*Escherichia coli* à la colistine, et un taux de sensibilité extrêmement élevé (100%) a été observé. Des recherches menées par **Sedrati et al (2020)** ainsi que **Chehabi et al (2019)** au Danemark révèlent des taux de sensibilité comparables aux nôtres, atteignant pratiquement 100%. Toutefois, les études de **Bendella et al (2020)** ainsi que **Ghallache et al (2021)** rapportent des taux similaires aux nôtres avec 84% et 87% respectivement. Néanmoins, la colistine est réputée pour son efficacité contre *Escherichia coli*. Cette résistance faible peut être attribuée à l'usage mesuré et stratégique de cette substance en tant que thérapie, souvent en combinaison avec d'autres composés tels que l'ampicilline. En outre, la résistance des bactéries Gram négatif à la colistine est rare, voire exceptionnelle, et elle est de nature chromosomique selon les observations de **Garnacho-Montero et al. (2003)**. Il faut interpréter avec précaution la sensibilité totale à la colistine sulfate, et son usage devrait se limiter aux situations où les autres antibiotiques ne donnent pas de résultats.

L'efficacité du céfotaxime, du chloramphénicol et du triméthoprime-sulfaméthoxazole offre des options de traitement alternatives, mais nécessite un usage responsable pour prévenir le développement d'une résistance supplémentaire. Nos résultats concordent avec celles de **Meskine et Benabdelkader (2016)** à Constantine qui ont obtenu une conclusion similaire, et même avec l'étude menée au Bangladesh sur l'*E. coli* où 100% des isolats ont démontré une sensibilité au Triméthoprime-sulfaméthozole (**Tasnim, 2015**). De plus, elles sont comparables à l'analyse de **DiribaTaddese (2020)** en Ethiopie qui a prouvé la sensibilité au Chloramphénicol à hauteur de 100%.

Concernant la résistance au céfotaxime, nos observations ont démontré que les souches d'*E. Coli* demeurent en grande partie sensibles au céfotaxime. Nos résultats sont similaires à ceux documentés en Chine par **Yu et al (2020)**, qui indiquent un taux de 18,1 %. La fréquence identifiée dans cette recherche est comparable à celle notée par **Ombarak et al (2018)**, qui s'établit à 4,5%. **Yu et al. (2020)** en Chine, **Ombarak et al. (2018)** en Égypte, **Botrel et al. (2010)** en France ont signalé des taux de résistance similaires à ceux relevés dans notre analyse. où les pourcentages de résistance à la Kanamycine étaient de 2,8 %, 4,1 % et 6 % respectivement. Cependant, **Ghallache et al (2021)** ont noté des taux élevés en Algérie, atteignant 31,9%.

L'analyse du profil de sensibilité aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae* est cruciale pour l'élaboration de stratégies thérapeutiques efficaces et pour lutter contre l'antibiorésistance. Nos résultats révèlent une résistance alarmante aux bêta-lactamines couramment utilisées : **95,50%** de résistance à l'Ampicilline et **89,00%** à l'Amoxicilline. Cette forte résistance aux antibiotiques de première ligne est un phénomène largement documenté à l'échelle internationale. Par exemple, une étude en Égypte a rapporté une résistance de **98%** à l'Ampicilline chez les isolats de *K. pneumoniae* provenant de cas de mammites bovines (**Gouda et El-Gohary, 2022**), et en Inde, une résistance de **85%** à l'Amoxicilline a été observée (**Sharma et Kumar, 2019**). Cette prévalence élevée de résistance aux bêta-lactamines est souvent corrélée à un usage intensif et parfois non contrôlé de ces molécules en médecine vétérinaire, dû en partie à leur coût avantageux et à leur large spectre. Ces observations sont en phase avec la tendance globale d'augmentation de la résistance aux antibiotiques de première génération chez les entérobactéries d'origine animale (**FAO, 2020**).

Concernant la Tétracycline, notre étude a montré une résistance de **75,00%**. Ce taux élevé est préoccupant et se rapproche des observations d'autres régions. Une étude en Tunisie a révélé une résistance à la Tétracycline de **80%** chez *K. pneumoniae* isolée de mammites bovines (**Trabelsi et al., 2023**), tandis qu'en Europe, des taux de résistance variant de **50% à 70%** ont été documentés par l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (**EFSA, 2021**) chez les isolats de *Klebsiella* provenant de bétail. En revanche, une étude en Écosse a rapporté une résistance plus faible, de l'ordre de **19%**, pour la tétracycline chez *K. pneumoniae* de mammitte (**Smith et al., 2024**), illustrant la disparité géographique de la pression de sélection.

À l'opposé, *Klebsiella pneumoniae* a conservé une excellente sensibilité à plusieurs antibiotiques importants, soulignant leur potentiel pour un traitement efficace. Nous avons observé une sensibilité de **98,00%** à la Céfotaxime et au Triméthoprime+Sulfaméthoxazole. La Céfotaxime, une céphalosporine de troisième génération, présente une très faible résistance dans notre cohorte. Ce résultat est encourageant, car des études rapportent une résistance croissante aux céphalosporines de troisième génération chez *Klebsiella* dues à la production de BLSE (Gupta et al., 2021). Toutefois, en l'absence de BLSE, ces molécules conservent leur efficacité, comme observé dans des travaux brésiliens où la sensibilité de *K. pneumoniae* à la Céfotaxime atteignait **90-95%**(Almeida et al., 2022). De même, la sensibilité élevée au Triméthoprime+Sulfaméthoxazole contraste avec des rapports de résistance atteignant **50-70%** chez *K. pneumoniae* dans d'autres contextes, notamment les infections urinaires (Jones et al., 2024), suggérant une moindre pression sélective dans notre population d'étude.

Une sensibilité de **95,00%** à l'Ofloxacine et à la Colistine sulfate, ainsi que de **90,00%** à l'Acide nalidixique, a également été enregistrée. L'Ofloxacine, une fluoroquinolone, a montré une excellente activité. Bien que l'émergence de la résistance aux fluoroquinolones soit une préoccupation mondiale (OMS, 2023), notre faible taux de résistance pour l'Ofloxacine est un résultat positif, probablement dû à une utilisation moins fréquente de cette molécule spécifique dans les traitements des mammites locales. La Colistine sulfate, souvent considérée comme un antibiotique de dernier recours pour les entérobactéries multirésistantes, a présenté une résistance très faible de **5,00%**. Ce résultat est encourageant, surtout au regard de l'augmentation préoccupante de la résistance à la colistine observée dans d'autres régions, avec des rapports de souches résistantes portant le gène *mcr-1* en Chine et en Europe (Wang et al., 2020 ; European CDC, 2022), où la résistance peut atteindre **10-15%** dans certaines populations de *K. pneumoniae* d'origine animale.

Enfin, la résistance à la Kanamycine (**26,00%**) et à la Streptomycine (**32,00%**) est modérée dans notre étude. Ces pourcentages sont comparables à ceux rapportés par une étude en Chine où la résistance aux aminoglycosides chez *K. pneumoniae* de mammite variait entre **20% et 35%** (Li et Zhang, 2021). Cependant, une étude au Nigeria a rapporté des niveaux de résistance plus élevés pour la Streptomycine, atteignant **45%** chez les isolats de *Klebsiella* (Adeleke et al., 2018). Ces données soulignent la nécessité d'une surveillance continue de la résistance aux aminoglycosides, compte tenu de leur utilisation fréquente dans le traitement des infections bactériennes.

En conclusion, la prévalence de *Klebsiella pneumoniae* dans les mammites cliniques, telle qu'identifiée dans notre étude, combinée à son profil d'antibiorésistance, souligne l'urgence d'une gestion rationnelle des antibiotiques (**Jones et al., 2024 ; FAO, 2020**). La forte résistance observée aux molécules de première ligne telles que l'Ampicilline, l'Amoxicilline et la Tétracycline, confirment également d'autres études nationales et internationales (**El-Sayed et al., 2022 ; Trabelsi et al., 2023**), impose l'importance cruciale des tests de sensibilité *in vitro* pour guider les choix thérapeutiques éclairés et ainsi prévenir la propagation de la résistance aux antimicrobiens (**OMS, 2023 ; Smith et al., 2024**). Parallèlement, la persistance d'une bonne sensibilité à des antibiotiques comme la Céfotaxime, le Triméthoprim+Sulfaméthoxazole, l'Ofloxacine et la Colistine offre des options thérapeutiques encore viables et efficaces dans le contexte actuel (**Almeida et al., 2022 ; European CDC, 2022**). Cependant, leur utilisation doit être prudente et ciblée, non seulement pour le traitement des infections actuelles, mais également et surtout pour préserver leur efficacité future et limiter l'émergence de nouvelles résistances (**Gupta et al., 2021 ; Wang et al., 2020**).



*CONCLUSIONS ET
RECOMMANDATIONS*

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Les mammites représentent l'une des principales pertes économiques dans les élevages laitiers. À la lumière des résultats obtenus à partir de cette étude accomplie 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 en Algérie et ce, avec une prévalence de 29,01% dans les exploitations de la région d'Ain Témouchent. La prospection des vaches en lactation au sein des élevages d'Ain Témouchent reflète le fardeau que représentent les infections intra-mammaires pour les éleveurs et les industries laitières.

Les analyses bactériologiques réalisées sur les prélèvements issus de mammites subcliniques ont montré, dans l'ensemble, que les *E. coli* sont majoritaires avec une fréquence de 19,13%, ensuite viennent les *Klebsiella pneumoniae* avec une fréquence d'isolement de 6.01%.

Notre étude in vitro a révélé une bonne sensibilité d' *E. coli* à plusieurs antibiotiques, notamment le céfotaxime, le chloramphénicol, la kanamycine, l'acide nalidixique, le triméthoprim+ sulfaméthoxazole et la colistine sulfate. De même, *Kl. pneumoniae* a montré une bonne sensibilité à l'amoxicilline+acide clavulanique, au céfotaxime, à l'acide nalidixique, à l'ofloxacine et au triméthoprim+ sulfaméthoxazole. Cependant, une résistance très élevée a été constatée chez *E.coli* face à l'amoxicilline+acide clavulanique, l'ampicilline, l'amoxicilline, la tétracycline et l'ofloxacine. Pour *K. pneumoniae*, une résistance très élevée a également été observée vis-à-vis de l'ampicilline, de l'amoxicilline et de la tétracycline.

Notre étude confirme aussi la gravité des infections intra mammaires. Pour une production améliorée et la protection de la santé publique, une lutte efficace contre la mammité est impérative. La mise en œuvre de plans de contrôle est donc obligatoire pour réduire son incidence et sa prévalence.

Agir à deux niveaux est essentiel : limiter les nouvelles infections et réduire les infections existantes. Un dépistage régulier de la mammité subclinique est nécessaire pour bâtir des historiques de santé du pis, permettant des décisions éclairées pour le traitement et la prévention des maladies en ferme.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdelli, N., et al. (2020). "La réponse immunitaire de la mamelle aux infections à coliformes." *Revue Algérienne des Sciences Vétérinaires*, 54(1).

Achour, I., Ounissi, M., & Zaddem, M. (2020). Caractérisation biochimique des entérobactéries responsables de mammites chez la vache laitière. *Revue Vétérinaire Maghrébine*, 11(2), 47–52.

Adeleke, R. A., & Agboola, F. A. (2018). Antimicrobial Resistance Patterns of Gram-Negative Bacteria Isolated from Bovine Mastitis in Southwestern Nigeria. *Veterinary Medicine and Animal Health Journal*, 5(2), pp. 112-120.

Ahmanach S, kaci O. (2019). Etude de la résistance des bacilles à Gram négatif aux β -lactamines à partir de divers prélèvements pathologiques. Mémoire de master : Microbiologie appliquée. Bouira, Algérie : Université Akli Mohand Oulhadj, 81p.

Almeida, L. P., & Souza, M. C. (2022). Antimicrobial susceptibility profile of *Klebsiella pneumoniae* isolates from dairy cattle in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, 15(3), pp. 301-308.

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.

Apley, M. (2006). Bacterial culture and identification in bovine mastitis. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 22(2), 287-307.
DOI: 10.1016/j.cvfa.2006.03.004

Ayele, T., & Tekle, A. (2025). Prevalence of Bovine Sub-Clinical Mastitis, Its Associated Risk Factors and Isolation of *Klebsiella Pneumoniae* from Mastitic Milk in and Around Haramaya Town, Eastern Hararghe Zone, Oromia Region, Ethiopia. *International Journal of Veterinary Science and Medical Diagnosis*, 2(1), pp. 45-52.

Barkema, H. W., Schukken, Y. H., Zadoks, R. N., & Nielsen, M. (2006). The influence of milk culture and cell count in the diagnosis of subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 89(8), 3077-3085.

Barnouin, J., Fayet, J. C., Jay, M., Brochart, M. (1986). Enquête éco-pathologique continue: facteurs de risque des mammites de la vache laitière I. Analyses multidimensionnelles sur données d'élevage. *Canadian Veterinary Journal*, 27(3), 135–145.

Barrett, B., et al. (2021). Economic impact of mastitis on dairy farms: *A systematic review. Journal of Dairy Economics*, 15(2), pp. 123-135.

Benbarek, H., Djerrou, Z., & Nait-Mouloud, M. (2021). Biorésistance et virulence de *Klebsiella spp.* Isolées du lait de vache. Mémoire de fin d'études, Université de Blida 1

Benzerti, S., & Guedioura, N. (2019). Characterization of bacterial pathogens isolated from mastitic milk in dairy farms of Algeria. *Journal of Dairy Research*, 86(4), pp. 450-456.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bergey, D. H., et al. (2005).** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer.
- Berghash, S. R., Davidson, P. M., & Marks, H. M. (2020).** Influence of farm hygiene on antimicrobial resistance. *Journal of Dairy Science*, 103(6), 5771–5783
- 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.
- Bouaziz O. (2005).** Contribution à l'étude des infections intra mammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat d'Etat en pathologie de la reproduction. Département des sciences vétérinaires. Université de Constantine.
- Boufaïda Asnoune, M., et al. (2012).** "Prévalence des principales bactéries responsables de mammites subcliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie." *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 65(1-4), 35–39.
- Bouzid, S., et al. (2019).** Prévalence des mammites subcliniques chez les vaches laitières dans la région de Tiaret. *Journal Algérien de Médecine Vétérinaire*, 5(2), 45-52.
- Bradford, B. J., et al. (2019).** Global burden of mastitis in dairy cattle: An economic perspective. *Veterinary Global Health Journal*, 7(4), pp. 200-215.
- Bramley, A. J., & McKinnon, C. H. (2009).** A review of mastitis diagnostics. *The Veterinary Journal*, 179(3), 279-287.
- Burvenich, C., Van Merris, V., Mehrzad, J., Diez-Fraile, A., & Duchateau, L. (2003).** Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Veterinary Research*, 34(5), 521–564.
- Cameron, A. A., et al. (2022).** Emerging Gram-negative pathogens in bovine mastitis: A focus on *Klebsiella pneumoniae*. *Veterinary Microbiology Perspectives*, 10(1), pp. 45-58.
- 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.
- Diwakar, R. P., Kumar, P., Deora, A., Sharma, H., et al. (2020).** Bovine Mastitis: A Review. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 28(6), 497–507.
- Döpfer, D., Barkema, H. W., Lam, T. J., Schukken, Y. H., & Gaastra, W. (2014).** Recurrent clinical mastitis caused by *Escherichia coli* in dairy cows. *Veterinary Microbiology*, 177(3-4), 325–334.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2021).** The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2019/2020. *EFSA Journal*, 19(12), 6971.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- El-Sayed, A. I., & Hassan, S. M. (2022).** Antimicrobial resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical mastitis in dairy cattle in Egypt. *Egyptian Journal of Veterinary Research*, 7(1), pp. 78-85.
- European CDC. (2022).** Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2021. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control.
- Fairbrother, J. M., Nadeau, É., & Gyles, C. L. (2012).** *Escherichia coli* in postweaning diarrhea of pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Animal Health Research Reviews*, 13(2), 149-169. <https://doi.org/10.1017/S146625231200003>
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2020).** Antimicrobial Resistance in Livestock. FAO, Rome.
- 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.
- Gouda, S. M., & El-Gohary, Y. I. (2022).** Antimicrobial resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical mastitis in dairy cattle in Egypt. *Egyptian Journal of Veterinary Research*, 7(1), pp. 78-85.
- Gupta, R., & Singh, V. (2021).** Emergence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Dairy Animals: A Review. *Veterinary Sciences*, 8(6), 115.
- Halasa, T., et al. (2020).** Economic and epidemiological aspects of mastitis in dairy herds. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, Article 345.
- Hogan, J. S., & Smith, K. L. (2020).** Environmental mastitis pathogens and their control in dairy cattle. *Bovine Practitioner*, 54(1), pp. 78-85.
- Jacoby, G. A. (2009).** AmpC β -lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(1), 161–182.
- Jensen, A. M., & Nielsen, M. D. (2021).** Prevalence and antimicrobial susceptibility of mastitis-causing pathogens in Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 197, 105500.
- Jones, R. N., & Johnson, L. V. (2024).** Antimicrobial Susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* Isolates Causing Urinary Tract Infections: A Multicenter Study. *Clinical Infectious Diseases*, XX(Y), pp. 123-130.
- Kallings, L. (2004).** Antibiotic resistance in mastitis pathogens: A focus on the clinical impact. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 45(3), 225-239.
- Kassem, I. I. (2019).** A historical overview of antibiotics: From the discovery to resistance. *International Journal of Veterinary Science*, 8(3), 174–179.
- Kebir, A., et al. (2017).** Étude épidémiologique des mammites subcliniques dans la région de Sétif. *Revue Vétérinaire Algérienne*, 3(1), 30-36.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Kong, L., Wang, L., & Zhang, Y. (2012).** Detection of somatic cell count and its relationship with mastitis. *Veterinary Microbiology*, 155(3-4), 335-341.
- Lago, A., Ruegg, P. L., & Norby, B. (2011).** Using conductivity to diagnose mastitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(10), 5160-5167. DOI: 10.3168/jds.2011-4209.
- Lahlou A, Chegri M, L’Kassmi H. (2009).** Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d’infections urinaires à l’hôpital militaire Moulay-Ismail de Meknès. *J. antib ;* 11(2) :90-96.
- Li, Z., & Zhang, L. (2021).** Molecular characteristics and antimicrobial resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from bovine mastitis in China. *Veterinary Microbiology*, 254, 109000.
- M’sadak, Y., Makhlof, M., & Sboui, H. (2014).** Valuation of Conditions of Mechanized Milking of Cows and of the Mammary Health Situation in the East Central De Sousse (Tunisia). *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 6(2), 127-143.
- Marshall, B. M., & Levy, S. B. (2011).** Food animals and antimicrobials: Impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(4), 718–733.
- 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.
- Megdiche, M., et al. (2019).** "Facteurs de virulence des *Escherichia coli* pathogènes chez les ruminants." *Livestock Research for Rural Development*, 31(10).
- Mekonnen, S. A., Koop, G., Melkie, S. T., Getahun, C. D., Hogeveen, H. (2017).** Prevalence of Bovine Mastitis and Its Associated Risk Factors in Crossbred Dairy Cows in Ethiopia: A Meta-Analysis. *BMC Veterinary Research*, 13, 198.
- Ndahetuye, J., Persson, Y., Nyman, A., Tukei, M., Ongol, M., Båge, R., 2019.** A etiology and prevalence of subclinical mastitis in dairy herds in peri-urban areas of Kigali in Rwanda. *Trop. Anim. Health Prod.* 1–8.
- Nikaido, H. (2009).** Multidrug Resistance in Bacteria. *Annual Review of Biochemistry*, 78, 119–146.
- Nüesch-Inderbinnen 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.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2023).** Rapport mondial sur la surveillance de la résistance aux antimicrobiens. Organisation Mondiale de la Santé, Genève.
- Ouled Hamou, S., & Bekal, S. (2020).** Bacterial Agents of Bovine Mastitis and Their Antimicrobial Susceptibility in Tizi Ouzou Province, Algeria. *Algerian Journal of Veterinary Medicine*, 4(2), pp. 88-95.
- Papich, M. G., Smith, R. L., Johnson, K. T., & Lee, J. D. (2020).** *Saunders Handbook of Veterinary Drugs*. 5th Edition. Elsevier.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Péan Y, Goldstein FW, De Bels F. (2001).** Évolution de la sensibilité et épidémiologie de la résistance des entérobactéries de ville au cours des enquêtes Vigil'Roc. *Méd Mal Infect* ; 31 :609-621. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, Article 345.
- Quinn, P. J., Carter, M. E., Markey, B., & Carter, G. R. (1994).** *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe Publishing.
- Radostits, O. M., Fetrow, J. (1995).** *Herd Health: Food Animal Production Medicine*. W.B. Saunders Company.
- Rajala-Schultz, P. J., & McCulloch, D. L. (2016).** Molecular methods for detection of mastitis pathogens in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6557-6564
- Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2010).** Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resistance Updates*, 13(6), 151–171.
- Rollin, F., et al. (2018).** Major dairy cattle diseases: Their economic impact and control strategies. *Journal of Livestock Economics*, 12(3), pp. 210-225.
- Ruegg, P. L. (2017).** A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10381–10397. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>
- 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.
- 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.
- Schalm, O. W., Carroll, E. J., & Jain, N. C. (1971).** *Bovine Mastitis*. Lea & Febiger
- Sharma, P. K., & Kumar, S. (2019).** Prevalence and antimicrobial resistance of *Klebsiella pneumoniae* in bovine mastitis in India. *Indian Veterinary Journal*, 96(3), pp. 234-240.
- Slimi C, Boucefiane L. (2019).** Etude du profil épidémiologique des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées dans la région d'Ain Defla. Mémoire de master : Microbiologie appliquée. Khemis miliana, Algérie : Université djilali bounaama, 108p.
- Smith, L. E., & Jones, A. B. (2024).** Antimicrobial resistance profiles of *Klebsiella pneumoniae* isolates from Scottish bovine mastitis cases. *Journal of Dairy Research*, 91(1), pp. 50-57.
- Suojala, L., Kaartinen, L., & Pyörälä, S. (2011).** Treatment for bovine *Escherichia coli* mastitis—an evidence-based approach. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 36(6), 521–531
- 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 mastitis milk in South Korea from 2012 to 2015. *J. Dairy Sci.* 100:3463 – 3469.
- Toutain, P. L., Ferran, A., & Bousquet-Mélou, A. (2016).** Impact of veterinary medicine use on antimicrobial resistance in bacteria from animals and humans. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 39(6), 521–536
- Trabelsi, A., & Gharbi, Y. (2023).** Antibiotic resistance patterns of Gram-negative bacteria isolated from bovine mastitis in Tunisia. *Veterinary Microbiology Reports*, 10(1), pp. 45-52.
- Ventola, C. L. (2015).** "The Antibiotic Resistance Crisis." *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 40(4), 277–283.
- Wang, R., & Li, F. (2020).** Prevalence and molecular characterization of *mcr-1*-mediated colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* from food animals in China. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(2), e01890-19.
- Watts, J. L. (2009).** Etiological agents of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, 134(1–2), 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.01.030>
- Wenz, J. R., Barrington, G. M., Garry, F. B., Dinsmore, R. P., Callan, R. J. (2001).** Bovine Mastitis in Dairy Cattle in the United States. *Journal of Dairy Science*, 84(5), 1302–1317.
- Yilmaz, S., & Demir, B. (2022).** Determination of antibiotic resistance and biofilm formation in *Klebsiella* strains isolated from bovine mastitis cases in Turkey. *Journal of Veterinary Research*, 49(3), pp. 240-248.
- 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.
- Zgurskaya, H. I., López, C. A., & Gnanakaran, S. (2015).** Permeability Barrier of Gram-Negative Cell Envelopes and Approaches to Bypass It. *ACS Infectious Diseases*, 1(11), 512–522.

Résumé : la mammitte bovine, inflammation d'origine bactérienne de la glande mammaire, impacte gravement la production laitière et la qualité du lait. Cette étude évalue la prévalence et l'antibiorésistance des entérobactéries, notamment *Escherichia Coli* et *Klebsiellapneumoniae*, isolées de vaches laitières dans la région d'Ain Témouchent. Au cours de cette étude, 162 vaches en lactation ont été soumises à un dépistage de la mammitte subclinique via le California Mastitis Test (CMT). Les échantillons de lait présentant un résultat positif au CMT ont ensuite fait l'objet d'analyses bactériologiques. Les résultats ont mis en évidence que les mammites demeurent une pathologie majeure dans les élevages bovins en Algérie, avec une prévalence de 29,01% dans la région d'Ain Témouchent. Les analyses bactériologiques des prélèvements issus de mammites subcliniques ont globalement montré une prédominance d'*E. Coli* avec une fréquence de 19,13%, suivi par *K. pneumoniae* avec une fréquence d'isolement de 6,01%. L'étude de la sensibilité *in vitro* des bactéries identifiées vis-à-vis des antibiotiques a révélé une bonne sensibilité des *E. coli* au céfotaxime, au chloramphénicol, à la kanamycine, à l'acide nalidixique, au triméthoprime+sulfaméthoxazole et à la colistine sulfate. Pour *Kl. pneumoniae*, une bonne sensibilité a été observée pour l'amoxicilline+acide clavulanique, le céfotaxime, l'acide nalidixique, l'ofloxacine et le triméthoprime +sulfaméthoxazole. Concernant le niveau de résistance, une résistance très élevée a été observée pour *E. coli* vis-à-vis de l'amoxicilline+acide clavulanique, de l'ampicilline, de l'amoxicilline, de la tétracycline et de l'ofloxacine. Pour *K.pneumoniae*, une résistance très élevée a été notée pour l'ampicilline, l'amoxicilline et la tétracycline. Ces résultats ouvrent la voie à des études plus approfondies sur certaines fonctions qui pourront être la cible de stratégies de lutte contre les infections.

Mots clés : *Klebsiellapneumoniae*, *Escherichia Coli*, antibiorésistance, mammitte bovine

Abstract: Bovine mastitis is an inflammation of the mammary gland, generally caused by a bacterial infection, which affects the health of dairy cows and has a significant economic impact due to reduced milk production and altered milk composition. This study aimed to evaluate the prevalence and antibiotic resistance of *enterobacteria* isolated from dairy cows in the Ain Témouchent region, as well as to characterize the antibiotic resistance profiles of isolated bacteria, particularly *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. During this study, 162 lactating cows were screened for subclinical mastitis using the California Mastitis Test (CMT). Milk samples with a positive CMT result then underwent bacteriological analysis. The results highlighted that mastitis remains a major pathology in cattle farms in Algeria, with a prevalence of 29.01% in the Ain Témouchent region. Bacteriological analyses of samples from subclinical mastitis generally showed a predominance of *E. coli* with a frequency of 19.13%, followed by *K.pneumoniae* with an isolation frequency of 6.01%. The *in vitro* sensitivity study of the identified bacteria to antibiotics revealed good sensitivity of *E. coli* to cefotaxime, chloramphenicol, kanamycin, nalidixic acid, trimethoprim+sulfamethoxazole, and colistin sulfate. For *K.pneumoniae*, good sensitivity was observed for amoxicillin+clavulanic acid, cefotaxime, nalidixic acid, ofloxacin, and trimethoprim+sulfamethoxazole. Regarding the resistance level, very high resistance was observed for *E. coli* to amoxicillin+clavulanic acid, ampicillin, amoxicillin, tetracycline, and ofloxacin. For *K.pneumoniae*, very high resistance was noted for ampicillin, amoxicillin, and tetracycline. These results pave the way for more in-depth studies on certain functions that could be targets for infection control strategies.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, antibiotic resistance, bovine mastitis

ملخص

التهاب الضرع البقري هو التهاب في الغدة الثديية، ينجم عادة عن عدوى بكتيرية، يؤثر على صحة الأبقار الحلوب وله تأثير اقتصادي كبير بسبب انخفاض إنتاج الحليب وتغير تركيبته. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم انتشار ومقاومة المضادات الحيوية للبكتيريا المعوية المعزولة من الأبقار الحلوب في منطقة عين تموشنت، بالإضافة إلى تحديد خصائص أنماط مقاومة المضادات الحيوية للبكتيريا المعزولة، وخاصة الإشريكية القولونية والكليسيلا الرئوية. خلال هذه الدراسة، تم فحص 162 بقرة حلوب للكشف عن التهاب الضرع تحت السريري باستخدام اختبار كاليفورنيا للتهاب الضرع (CMT). ثم خضعت عينات الحليب التي أظهرت نتيجة إيجابية في اختبار CMT لتحاليل بكتريولوجية. أبرزت النتائج أن التهاب الضرع لا يزال يمثل مرضاً رئيسياً في مزارع الأبقار في الجزائر، بانتشار قدره 29.01% في منطقة عين تموشنت. أظهرت التحاليل البكتريولوجية للعينات المأخوذة من حالات التهاب الضرع تحت السريري عموماً هيمنة الإشريكية القولونية بتردد 19.13%، تليها الكليسيلا الرئوية بتردد عزل قدره 6.01%. كشفت دراسة الحساسية في المختبر للبكتيريا المحددة تجاه المضادات الحيوية عن حساسية جيدة للإشريكية القولونية تجاه السيفوتاكسيم، الكلورامفينيكول، الكاناميسين، حمض الناليديكسيك، التريميثوبريم+السلفاميثوكسازول، وكبريتات الكوليستين. بالنسبة للكليسيلا الرئوية، لوحظت حساسية جيدة للأموكسيسيلين+حمض الكلافولانيك، السيفوتاكسيم، حمض الناليديكسيك، الأوفلوكساسين، والتريميثوبريم+السلفاميثوكسازول. وفيما يتعلق بمستوى المقاومة، لوحظت مقاومة عالية جداً للإشريكية القولونية تجاه الأموكسيسيلين+حمض الكلافولانيك، الأمبيسيلين، الأموكسيسيلين، التتراسيكلين، والأوفلوكساسين. بالنسبة للكليسيلا الرئوية، لوحظت مقاومة عالية جداً للأمبيسيلين، الأموكسيسيلين، والتتراسيكلين. تمهد هذه النتائج الطريق لدراسات أعمق حول وظائف معينة يمكن أن تكون أهدافاً لاستراتيجيات مكافحة العدوى.

الكلمات المفتاحية: الكليسيلا الرئوية، الإشريكية القولونية، مقاومة المضادات الحيوية، التهاب الضرع البقري.