**Résumé du PFE** : Etude sur l’étiologie bactérienne des mammites cliniqueset subcliniques de la vache laitière dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj

**Auteur : Sedrati, Tahar**

**Résumé :**

**فحص 400 بقرة حلوب ، خلال فترة 24 شهرًا ، تنتمي إلى 100 مزرعة تقع في 03 بلديات بمنطقة برج بوعريريج شرق الجزائر. كان الهدف هو التحقيق في معدل انتشار التهاب الضرع السريري عند الأبقار والتعرف على مسبباته . بعد ذلك ، قمنا بتوجيه اهتمام خاص إلى التعرف والوصف الظاهري والجزيئي للجينات المسؤولة علي المقاومة للمضادات الحيوية. المعزولة من حالات التهاب الضرع السريري عند الأبقار. E.coli لسلالات**

**الجينات المسؤولة عن المقاومة للمضادات الحيوية ، بما في ذلك تلك التي تمنح المقاومة لصنف البيتالاكتامين ذات الطيف الواسع ( blaTEM ، blaSHV ، blaCTX-M BLSE :) ، صنف التتراسيكلين ( tetA ، tetB ، tetC ، tetJ) ، صنف الأمينوزيد aph (3 ') ] ،) aadA, aac (6'), ant, aac (3'), armA (3' [ و أيضا صنف,الكينولون qnrB), (qnrA تم تضخيمها بواسطة جهاز PCR ثم القيام بالتنميط الجزئي لها عندما تكون إيجابية. تم التحقيق في قابلية نقل الجينات المسؤولة عن المقاومة ضد المضادات الحيوية من خلال تجارب الاقتران. أخيرا , تمت دراسة العلاقة بين السلالات متعددة المقاومة بواسطة Multilocus Sequence typing (MLST ).**

**فى المجمل , تم تحديد 180 عزلة بكتيرية بواسطة مطياف الكتلة ( (MALDI-TOF-MS . أيضا , تم إجراء إختبار الحساسية للمضادات الحيوية عن طريق طريقة إنتشار القرص .**

**بعد الفحوصات السريرية للأبقار الحلوب ، تبين أن إلتهاب الضرع السريري موجود بالفعل في هته القطعان وهذا بمعدل 29 ٪ .**

**من جهة أخري , تبين أن البكتيريا المعوية ( Enterobacteriaceae) هي الجراثيم الرئيسية المسؤولة عن إلتهاب الضرع السريري في عينتنا ، بنسبة 45٪ (81/180) من الحالات ، متقدّمة بفارق كبير عن الجراثيم الأخرى . تحتل مجموعة المكورات العنقودية المخثرة الإيجابية(SCP ) المرتبة الثانية بنسبة 25٪ (45/180) من الحالات. في المرتبة الثالثة تأتى عائلة Streptococcaceae بنسبة 15٪( 27/180) من الحالات ثم المكورات العنقودية المخثرة السلبية (SCN)بنسبة 10٪ (18/180) ، يليها كل من Pseudomonas aeroginosa و Acinetobacter pittii ، بنسبة 1.7٪ (3/180) و 1.1٪ (1/180) من الحالات. يجدر الإشارة إلى أن E.coli هى النوع الأكثرإنتشارا (52 سلالة) ، وتمثل المسبب الرئيسى لمرض إلتهاب الضرع السريري في هته الدراسة.**

**كانت المقاومة الأكثر شيوعًا هي ضد الأموكسيسيلين (86.5٪) ، تليها ضد التتراسيكلين (75٪) ، ثم ضد كل من الأموكسيسيلين حمض- الكلافولانيك (59.6٪) ، تريميثوبريم-سلفاميثوكسازول (36.5٪) ، الدوكسيسيكلين (13.5٪) ، والسيبروفلوكساسين (13.5٪). في حين , لوحظ وجود المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية في 38.4٪ من السلالات.**

**أظهر التوصيف الوراثي أن جينات tetA( (44.2٪ و blaTEM-1 ( (30.7٪ هي الأكثر إنتشارًا. بينما أظهر فحص جينات مقاومة الكينولون أن سبع سلالات (13.5 ٪) منتجة ل qnrB وسلالة واحدة (1.9 ٪) تحتوي على qnrA.**

**بالإضافة إلى ذلك ، تم الكشف عن جينات المقاومة للأمينوزيد aadA1 و aac (3) -Id في سبع سلالات واثنتين على التوالي. علاوة على ذلك ، تمت عملية نقل كل من blaTEM و tetA و tetB و qnrB و aadA1 بنجاح أفقيًا إلى سلالات متحولة. أخيرا, كشفت تقنية MLST أن السلالات متعددة المقاومة للمضادات الحيوية تنتمي إلي ثلاثة أنواع مختلفة من التسلسل (ST162 و ST371 و ST 949) .**

**الكلمات الدالة : إلتهاب الضرع البقري ، E .coli ، مقاومة المضادات الحيوية ، MALDI-TOF ، MLST.**

**Resume :**

**Les mammites compromettent l’industrie de la production laitière et occupent par ailleurs le premier rang en termes d’impact économique au sein des exploitations bovines laitières. Dans notre étude, 600 vaches laitières appartenant à 100 élevages situés dans 03 communes de la wilaya de Bordj Bou Arreridj ont été examinés, durant une période de 24 mois.**

**L’objectif est d’évaluer la prévalence des mammites cliniques et d’identifier les agents pathogènes responsables de ces infections.**

**Suite aux examens cliniques des vaches laitières, il s’avère que les mammites cliniques sont bien présentes dans ces élevages avec un taux de 29 %.**

**Un total de 180 isolats bactériens a été identifié par le système MALDI TOF MS. Les entérobactéries sont les principaux germes responsables des mammites cliniques dans notre échantillon, avec 45% (81 /180) des cas, loin devant les autres germes. Le groupe des staphylocoques à coagulase positive est en seconde position avec 25% (45/180) des cas. En troisième lieu, les mammites causées par la famille des Streptococcaceae représentent 15% (27/180) des cas. Ensuite, vient les Staphylocoques à coagulase négative, Pseudomonas aeroginosa et Acinetobacter pittii avec respectivement 10% (18/180), 1,7% (3/180 souches) et 1,1% (1/180) des cas. Ainsi, E. coli est l’espèce la plus fréquemment isolée (52 souches), et représente l’agent dominant dans les isolats de cette étude.**

**Un intérêt particulier a été porté à la caractérisation phénotypique et moléculaire du support génétique de résistances aux antibiotiques, des souches d’E.coli isolées à partir des cas de mammites cliniques.**

**Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés par la méthode de diffusion sur disque. La réaction de PCR et le séquençage ont été utilisés pour la détection des gènes codant pour : les bêta-lactamases à spectre étendu (blaTEM, blaSHV et blaCTX-M), aux tétracyclines (tetA, tetB, tetC et tetJ), aux aminosides [aph(3’), aac(3’), aac(6’), ant, aad et armA], et aux quinolones (qnrA et qnrB). La technique de conjugaison a été utilisée pour tester la transférabilité des déterminants génétiques de la résistance. Enfin, l’étude de la relation clonale entre les souches multirésistantes a été déterminée par la technique Multi-locus Sequence Typing (MLST).**

**Nos résultats mettaient en avant un haut niveau de résistance des isolats à l’action des tétracyclines (75 %), et des β-lactamines (61,5 %). Différents gènes de résistance aux β-lactamines (blaTEM-1), aux tetracyclines (tetA, tetB, tetC et tetJ), aux aminosides (aadA1 et aac(3)-Id), ainsi qu’aux quinolones (qnrA et qnrB), ont été détectés. La conjugaison a montré que les gènes blaTEM, tetA, tetB, qnrB et aadA1 et armA ont été portés sur un plasmide transférable. De plus, Le typage moléculaire par la technique MLST a révélé la présence de trois types de séquences différents (ST162, ST371 et ST 949).**

**Mots clés : Mammites bovines, E.coli, Résistance aux antibiotiques, MALDI-TOF, Multilocus sequence typing.**

**Bovine mastitis is among the most costly and common disease in dairy cows worldwide. In our study, 400 dairy cows were examined, during a period of 24 months, belonging to 100 farms located in 03 communes of the region of Bordj Bou Arreridj.**

**The objective of this study was to investigate the prevalence of clinical mastitis and to identify the pathogens responsible for these infections. Then, a particular interest was brought to the phenotypic and molecular characterization of the genetic support of resistance to antibiotics of E. coli strains isolated from clinical mastitis cases.**

**A total of 180 bacterial isolates were identified by mass spectrometry (MALDI-TOF-MS). The antimicrobial susceptibility testing was performed by disk diffusion method. Antibiotic resistance genes, including those conferring resistance to extended-spectrum β-lactamases (i.e., blaTEM, blaSHV, and blaCTX-M), tetracyclines (tetA, tetB, tetC, and tetJ), aminoglycosides [aph (3’), aac (3’), aac (6’), ant, aadA, and armA], and quinolones (qnrA and qnrB) were amplified by standard PCR and sequenced when positive. Transferability of resistance genes has been investigated by conjugation experiments.**

**Following clinical examinations of dairy cows, it turns out that clinical mastitis is indeed present in these herds with a rate of 29 %.**

**Enterobacteriaceae are the main germs responsible for clinical mastitis in our sample, with 45% (81/180) of cases, far ahead of other germs. The group of coagulase positive staphylococci is in second position with 25% (45/180) of cases. In the third position, mastitis caused by the Streptococcaceae family represents 15% (27/180) of cases. Then comes the coagulase negative Staphylococci, Pseudomonas aeroginosa and Acinetobacter pittii with respectively 10% (18/180), 1.7% (3/180) and 1.1% (1/180) of cases. Thus, E. coli is the most frequently isolated species (52 strains), and represents the dominant agent in the isolates in this study.**

**The most frequently observed resistance was to amoxicillin (86.5%), followed by tetracycline (75%), amoxicillin–clavulanic acid (59.6%), trimethoprim-sulfamethoxazole (36.5%), doxycycline (13.5%), and ciprofloxacin (13.5%). Multidrug resistance was observed in 38.4% of isolates. Genotypic characterization showed that tetA (44.2%) and blaTEM-1 (30.7%) genes were the most prevalent. Screening for plasmid-mediated quinolone resistance genes demonstrated that seven isolates (13.5%) expressed qnrB and one isolate (1.9%) harbored qnrA.**

**In addition, aminoglycoside resistance determinants including aadA1 and aac(3)-Id were detected in seven and two isolates, respectively. Moreover, blaTEM, tetA, tetB, qnrB, and aadA1 were successfully transferred horizontally to transconjugant strains. The multilocus sequence typing revealed the presence of three different sequence types (ST162, ST371, and ST 949).**

**Key words: Bovine mastitis, Antimicrobial resistance genes, MALDI-TOF, Multilocus sequence typing.**