

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'El-Harrach

-Alger -

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention

Du Diplôme de docteur vétérinaire

**ETUDE DE LA COLIBACILLOSE CHEZ LE LAPIN
DE POPULATION LOCALE**

Présenté par : Belgacem Ryma

Le jury :

Président: Mr GOUCEM R maitre assistant classe B

Examinatrice : Mme BOUDIAF S maitre assistant classe A

Examinatrice : Mme DJELOUT B maitre assistant classe A

Promotrice : Mme SAHRAOUI .L maitre assistant classe A

Année universitaire 2012/2013

Remerciements

Tout D'abord, Nous Tenons A Remercier Dieu, Le Tout Puissant Qui A Eclairé Notre Chemin.

Nous Tenons A Exprimer notre Profonde Gratitude Et Sincères Remerciement A Ma Promotrice M^{me} Sahraoui Lynda Pour Avoir Accepté De Diriger Ce Travail Avec Patience Et Compétence Et Pour Ses Précieux Conseils Et Tout L'attention Qu'elle M'accordé Tout Au Long De Ce Travail.

A Mr Gousem. R Maître Assistant Classe b a ENSV D'avoir Bien Voulu Accepter De Présider Le Jury.

A Mme Boudiaf. S Maître Assistant Classe A a ENSV. D'avoir Bien Voulu Examiner Ce Mémoire.

A Mme Djelout. b Maître Assistant Classe A a ENSV D'avoir Bien Voulu Examiner Ce Mémoire.

Je Remercier Toutes Les Personnes Qui Ont Aidé De Prée Ou De Lion Pour La Réalisation De Ce Travail

Merci

Dédicaces

Je Voudrais Dédier Ce Modeste Travail :

*La Personne Qui A Sacrifié Sa Vie Pour Moi, Qui A Pris Des Fis Pour Mes
Etudes, Et M'as Eclairé Le Chemin De Ma Réussite A Toi Mon Cher « Papa »*

A La Prunelle De Mes Yeux, Celle Qui M'as Soutenue Et Qui A Voulu Qu'elle

Sommet Et Comme Une Etoile Filante A Toi Ma Chère « Mère »

A Mes Frères Bedr El Dine Et Farouk A Mes Sœurs Jhsane Et Bahia Et

Nabila

A Mon Fiance Hamza Et Ma Belle Famille.

A Tous Mes Amis : Samira ; Imene ; Rima ; Sarah ; Hadjer ; Amel ; Saida.

Wafa

A Tous Mes Connus.

RJM

ABREVIATIONS

E.COLI : *Escherichia coli*

ECEP : *Escherichia coli* entéropathogène

ECET : *Escherichia coli* entérotoxinogène

STEC : SHIGA toxine *Escherichia coli*

pH : potentiel Hydrogènes Shiga toxine

RDEC : Rabbit Diarrhoea *E.Coli*

EMB : éosine-méthylène bleu

Gram_ : Gram négative

AM : Ampicilline

AX : Amoxicilline

TE : Tétracycline

S : Streptomycine

N : Néomycine

E : Erythromycine

CT : Colistine

NA : Acide

CZ : Céphalotine

LISTE DES TABLEAUX :

TABLEAUX	TITRES	PAGES
Tableau I	Classification d'E coli pathogène	09
Tableau II	Situation de l'utilisation des antibiotiques chez le lapin en France d'après LICOIS., 1996.	13
Tableau III	Représentation de l'ensemble des sujets morts traités	18
Tableau IV	Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme	23
Tableau V	Les lésions et symptômes observés à l'autopsie	26
Tableau IV	Les résultats comparatifs avant et après l'identification biochimique sur milieu Mac Conkey et EMB	28
Tableau VII	Résultats de la recherche et dénombrement d' <i>E. coli</i> dans le contenu caecal	30
Tableau VIII	Résultats de la recherche et dénombrement d' <i>E. coli</i> dans le contenu caecal	31

LISTE DES PHOTO :

PHOTO	TITRES	PAGES
Photo1	Syndrome diarrhéique chez lapereaux (photo personnel)	17
Photo 2	: Tube BHIBensemencé par les organes (Photo personnel)	19
Photo 3	colonies caractéristiques sur VRBL (photo personnelle)	22
Photo 4	gélose de Muller Hinton coulé sur biote de Pétri (photo personnelle)	24
Photo5	nouveau née déshydraté (Photo personnelle)	26
Photo6	lapereau mort avc dairrhée (photo personnel)	26
Photo7	un tube digestif congestionné (photo personnel)	26
Photo8	ballonnement de l'abdomen (photo personnel)	26
Photo 9	caecum d'un lapereau mort (photo personnel)	26

LISTE DES FIGURE :

FIGURES	TITRES	PAGES
Figure 1	Schéma des différents éléments du tube digestif du lapin (Lebas <i>et al.</i> 1996)	04
Figure 2	schéma de la structure microscopique d' <i>E.coli</i> (Anonyme, 2011)	07
Figure3	: pourcentage des prélèvements avec et sans colonie caractéristiques à <i>E coli</i>	27
Figure4	pourcentage des souches d' <i>E. Coli</i> identifiées	28
Figure5	pourcentage du prélèvement dénombré et indénombré	29
Figure6	les pourcentages des souches classée en sensibles, intermédiaires et résistantes aux antibiotiques (foie)	32
Figure7	les pourcentages des souches classée en sensibles, intermédiaires et résistantes aux antibiotiques (caecum)	32

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	01
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE 1 : PHYSIOLOGIE DIGESTIVE DE LAPIN	
I.DEFINITION DE L'ESPECE	03
II. L'APPAREIL DIGESTIVE.....	03
III. LA FLORE DIGESTIVE.....	05
III.1. La flore digestive bactérienne du lapin	05
III.2. Flore caecale.....	05
III.3. Les facteurs influençant la flore digestive	06
IV.LA FLORE COLIBACILLAIRE DE LAPIN	06
CHAPITRE 2 : AGENT PATHOGENE	
I.HABITAT.....	07
II.CARACTERE MORPHOLOGIQUE.....	07
III.TAXONOMIE.....	07
IV.PROPRIETES ANTIGENIQUE.....	08
V.CLASSIFICATION D'E COLI PATHOGENE	08
CHAPITRE 3 : LA COLIBACILLOSE CHEZ LE LAPIN	
I. IMPORTANCE DE LA MALADIE.....	10
II. ORIGINE DE LA MALADIE.....	10
III. SYMPTOMES.....	10
III.1. symptomatologie générale.....	10
III.2 .Symptomatologie par catégorie.....	10
IV. LESIONS.....	11
V. INCIDENCE DES <i>E COLI</i> ENTEROPATHOGENES	11
VI. CARACTERISATION DE LA SOUCHE	12
IV.1. Biotype	12
IV.2. Mobilité	12

IV.3. Antibiorésistance.....	12
VII. TRAITEMENT ET PREVENTION.....	14
VII.1 .TRAITEMENT.....	14
VII.2. PREVENTION	14
VIII. ENTERITE COLIBACILLAIRE DE SEVRAGE	15

PARTIE EXPERIMENTAL

MATERIEL ET METHODE

I.OBJECTIF.....	16
II. LIEU ET PERIODE D'ETUDE	16
III. MATERIEL ET METHODES.....	16
III.1.MATERIEL.....	16
III.2. METHODES.....	17
III.2. 1. Autopsie	17
III.2.2. Analyse bactériologie	18
III.2.2.1.Analyse des prélèvements de foie	19
a. Préparation et enrichissement des échantillons	19
b. Isolement	19
c. Identification macroscopique et microscopique	19
1. Sur le plan macroscopique.....	19
2. sur le plan microscopique.....	20
d. identification biochimique	20
d. 1. Test de K.I.A	20
d. 2. Teste de l'uréase	20
d. 3. Test de l'indole	21
d. 4. Test du citrate.....	21
III.2.2.2. Analyse des prélèvements de contenu caecal.....	22

a. Préparation des échantillons et test de présomption.	22
b. Test de confirmation	22
c. Tests d'identification biochimique	22
IV. Etude de l'Antibiorésistance des souches identifiées	23
IV.1. Principe	23
IV.2. Techniques.....	23
IV.3. Inoculum	24
IV.4. Ensemencement	24
IV.5. Application des disques d'antibiotiques	25
IV.6. Incubation	25
VI.7. Lecture	25
RESULTAT ET DISCUSSION	
I. SYMPTOMES ET LESION	26
II. RESULTATS DE L'ANALYSE DE LABORATOIR	27
II.1. Résultat obtenu à l'isolement sur MacConkey des prélèvements du foie	27
a. Résultats de l'étude macroscopique	27
b. Résultat de l'étude microscopique.....	28
c. Résultats de l'identification biochimique	28
II.2. Résultat obtenu après test de présomption sur VRBL des prélèvements du contenu caecal :	29
III. Résultats de l'étude de l'antibiorésistance des souches d'E. coli	31
CONCLUSION	32
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

INTRODUCTION

En Algérie, la cuniculture a toujours existé, mais selon un mode traditionnel basé sur des animaux de population locale.

Mais depuis quelques années le développement de la filière cunicole était orienté, à l'image de la filière avicole, vers un système d'élevage intensif, reposant essentiellement sur les souches hybrides importées, et dont l'objectif visait à assurer un approvisionnement régulier des marchés urbains en protéines animales de moindre coût. Cette tentative d'introduction et d'intensification de l'élevage lapin (entre 1985 et 1988) a, non seulement, échoué en raison de plusieurs facteurs, dont la méconnaissance de l'animal, l'absence d'un aliment industriel adapté, l'absence d'un programme prophylactique, mais a eu également pour conséquence l'éloignement de la population locale tant du point de vue de sa connaissance que de son intégration dans les systèmes d'élevage ((Ferrah, 2003).

En outre, la nouvelle stratégie du développement de la production cunicole utilisant le lapin de population locale s'est imposée. Ceci est en relation étroite avec les qualités d'adaptation de l'animal aux conditions alimentaires et climatiques.

Actuellement, deux systèmes de production coexistent en Algérie, un système traditionnel, issu de petits élevages familiaux et un système rationnel qui se substitue progressivement à la production traditionnelle. Ainsi, l'élevage cunicole est passé du mode familial au mode intensif. La conduite d'élevage a du parallèlement évoluer et s'adapter à ce nouveau mode de production, notamment au niveau de la maîtrise de l'ambiance d'élevage.

Cependant, la cuniculture reste un type d'élevage marginalisé car les lapins sont des animaux très sensibles à leur environnement, déclarant des affections à la moindre variation de ce dernier, posant de nombreux problèmes sanitaires comme la colibacillose qui devenue une des préoccupations importantes des éleveurs, tant pour la mortalité et la morbidité qu'elle induit que pour les pertes économiques qu'elle engendre.

La colibacillose est une pathologie digestive d'origine bactériennes et un des problèmes majeurs chez le lapin. Elle entraîne des taux de mortalité de plus de 30%, et dont l'évolution n'est pas entravée par les traitements médicamenteux. (Camguilhem et Milon., 1991)

La cause essentielle de mortalité chez le lapereau sevré est la pathologie digestive, avec une symptomatologie associant diarrhée et déshydratation. L'origine principale des diarrhées dans les

élevages cunicoles sont les infections par les *Escherichia coli* entéropathogène. En élevage intensif, malgré l'utilisation d'anticooccidien la coccidiose demeurent présente dans certains élevages parmi les affections entéritiques, associées le plus souvent à une prolifération iléo caecale d'*E coli* (Licois et al., 1982).

La flore caecale normale du lapin est dominée par des anaérobies et est relativement pauvre en colibacilles. Dans les cas de diarrhées d'étiologie complexe, les taux des colibacilles peuvent augmenter. La colibacillose n'est, dans ce cas, qu'une « entérite non spécifique ».

Par contre, la colibacillose, à redouter, apparaît en phase d'engraissement. Elle est due à des *E. coli* appartenant à des sérogroupes spécifiques, entéropathogènes, souvent multi-résistants aux antibiotiques.

Dans notre pays, la colibacillose chez le lapin est difficile à éliminer par de simples mesures sanitaires. L'importance des pertes qu'elle cause aux quelles viennent s'ajouter les frais en antibiothérapie, nous a amené à nous pencher sur le sujet.

Dans ce contexte notre travail consiste à :

- ✓ Une synthèse bibliographique sur la forme de la colibacillose chez le lapin,
- ✓ Un diagnostic de la colibacillose par l'observation des lésions sur les sujets morts et l'analyse bactériologique par le dénombrement, l'isolement et l'identification d'*Escherichia coli*,
- ✓ L'appréciation de la résistance des souches, isolées et identifiées, aux molécules d'antibiotique par un antibiogramme.

I. DEFINITION DE L'ESPECE :

Le lapin est un mammifère herbivore monogastrique appartenant à l'ordre des lagomorphes (famille des léporidés : lapins et lièvres) ainsi, ce n'est pas un rongeur bien que le fait de ronger soit un des trait caractéristique de son comportement alimentaire.

Animal domestique Le lapin de garenne européen (*Oryctolagus cuniculus*) est à l'origine des multiples races de lapins élevées à présent dans le monde entier.

II. L'APPAREIL DIGESTIF :

Cet appareil assure la préhension des aliments et de l'eau, leur digestion, l'absorption des nutriments et enfin le rejet des déchets sous forme de crottes et de déchets du métabolisme protidique (urée). Il est donc forme du tube digestif constitue de différentes partie et des glandes annexes (foie, pancréas.....).

La bouche

Elle comprend la langue qui a pour rôle de faire avancer les aliments vers le pharynx. Le lapin possède quatre incisives supérieures (deux grandes et deux petites situées derrière) et deux incisives inférieures à croissance continue. Une malposition empêcherait leur usure et favoriserait l'installation des "dents d'éléphant". Les molaires et prémolaires, également à croissance continue, peuvent aussi pousser de travers et gêner la mastication.

La bouche est le carrefour des voies respiratoires et digestives. Des glandes salivaires libèrent la salive qui lubrifie les aliments et débute la digestion.

Œsophage

L'œsophage fait suite au pharynx. C'est un tube qui assure le transport des aliments et de l'eau jusqu'à l'estomac.

Estomac

C'est une poche qui assure la digestion mécanique et une partie de la digestion chimique.

En revanche, son rôle sécrétoire est très important : en effet, l'intense et la permanente sécrétion d'acide chlorhydrique permet d'atteindre un pH très bas, de l'ordre de 1 à 2,5 chez le lapin adulte, et de 5 à 6,5 chez le lapereau (celui-ci diminuant rapidement après le sevrage). Cette acidité gastrique empêche le développement de bactéries, ainsi qu'elle permette la dégradation des antibiotiques.

L'intestin

Intestin grêle

Fait suite au pylore mesure environ 3 m de longueur pour un diamètre d'environ 0,8 à 1 centimètre. Il est classiquement divisé en *duodénum*, *jéjunum* et *iléon*, la partie terminale. Le canal cholédoque qui apporte la bile en provenance du foie débouche au début du duodénum, immédiatement après le pylore. Son ouverture dans le duodénum est régulée par le *sphincter d'Oddi*. Rappelons que chez le lapin la bile est sécrétée pratiquement en continu par le foie, puis stockée dans la vésicule biliaire avant son évacuation. Le canal pancréatique débouche vers la fin du duodénum à environ 40 cm du pylore.

Cet intestin grêle débouche à la base du cæcum par le "*sacculus rotundus*" qui contient la valvule iléo-cæcal. Sa paroi est constituée de tissu lymphoïde.

Le cæcum

Forme un second réservoir qui mesure environ 40-45 cm de longueur pour un diamètre moyen de 3 à 4 centimètres. Il contient 100 à 120 g d'une pâte homogène ayant une teneur en matière sèche (MS) de 22 pour cent en moyenne et un pH proche de 6 La paroi du cæcum s'invagine selon une spirale qui fait 22 à 25 tours ou spires, augmentant ainsi la surface de muqueuse au contact du contenu cæcal. A son extrémité, l'appendice caecal (10-12 cm) a un diamètre nettement plus faible.

Après le caecum, on trouve un **côlon** d'environ 1,5 m. Il est d'abord caractérisé par la présence d'*haustra* (petits renflements en forme de poche) sur environ 50 cm : c'est le côlon proximal. Après une zone d'environ 1 à 1,5 cm portant les seuls muscles striés du tube digestif et appelée fusus coli, la paroi devient lisse dans sa partie terminale; cette partie est appelée côlon distal. Sa dernière partie est appelée rectum et se termine à l'anus. Ce dernier est porteur des glandes anales.

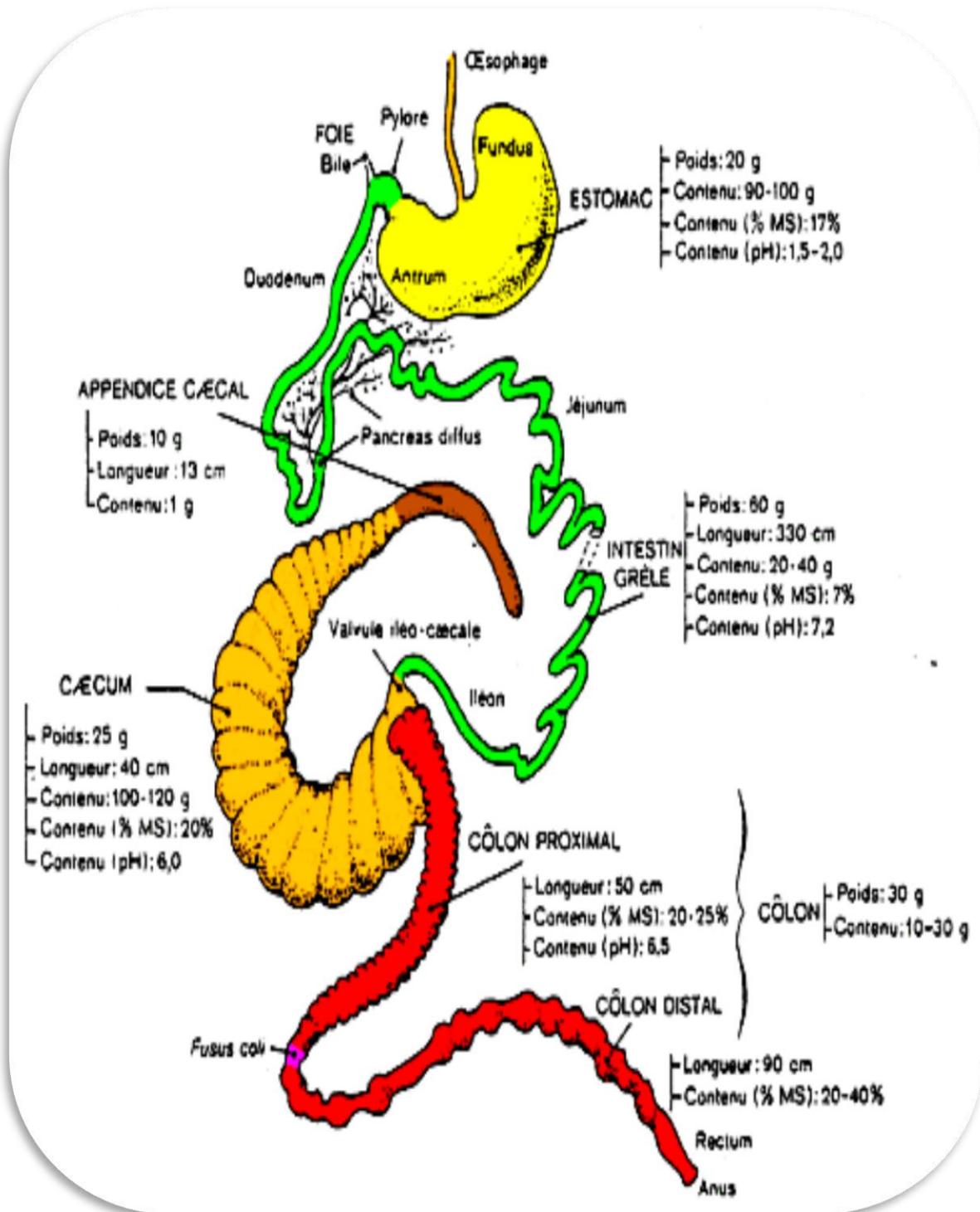


Figure 1: Schéma des différents éléments du tube digestif du lapin (Lebas *et al.* 1996)

III. LA FLORE DIGESTIVE :

III. LA FLORE DIGESTIVE

III.1. La flore digestive bactérienne du lapin :

Le lapin se distingue des autres lagomorphes par la composition de sa flore digestive. La majorité des bactéries sont des anaérobies stricts, non sporulées, gram négatif, genre *Bacteroides*. Parmi les bactéries habituelles trouvées dans le tube digestif des mammifères, on peut noter les Lactobacilles (*Escherichia coli*). Ces derniers sont généralement absents, sauf en cas de ration riche en glucides et pauvre en fibres. La population bactérienne du gros intestins du lapin a une activité protoéolytique et cellulolytique (Gallois, 2006). Selon Quinton (2003), la composition de la flore évolue avec l'âge. Ainsi, chez le lapereau de moins de trois semaines, les bactéries s'établissent peu, de fait de la présence d'un acide gras anti microbien dans le lait de la lapine. Vers le 14^{ème} jour, on observe une prédominance de *Stréptococci* puis la flore définitive s'installe progressivement grâce au pH moins acide de l'estomac qui permet le passage des bactéries vers le gros intestin.

III.2. Flore caecale :

Le caecum est un milieu particulièrement favorable au développement des micro-organismes, en raison de son pH peu variable, sa température élevée, sa richesse en eau et en éléments nutritifs provenant d'une digestion incomplète.

La flore caecale est très spécifique et étroitement dépendante du milieu caecal . Toute modification de celui-ci peut être à l'origine d'un déséquilibre de la flore et donc d'un trouble digestif. Grâce à sa flore, le caecum est le siège d'un métabolisme intense (cellulolyse, uréolyse, production d'acide gras volatils, transamination et désamination d'acides amines, synthèse de vitamines...) qui permet la transformation des résidus digestifs en nutriments de haute valeur biologique. Les acides gras volatils sont produits à partir des glucides parietaux digestibles (cellulose) et des glucides cellulaires (amidon). Les proportions des trois acides gras volatils produits lors de ces fermentations sont : 75% d'acide acétique, 18% d'acide butyrique et 7% d'acide propionique, lorsqu'ils ne sont pas dissociés, ils exercent une action inhibitrice sur le développement de la flore colibacillaire en maintenant un pH caecal compris entre 5,8 et 6,5 (Parker, 1976; Marty et Vernay, 1984; Gidenne, 1994).

III.3. Les facteurs influençant la flore digestive :

De nombreux facteurs puissent engendrer une rupture de l'équilibre de la flore digestive rendant ainsi cette dernière fragile. De ce fait, la nature de l'aliment apporté au lapin influence le type de cette flore. Un régime alimentaire riche en hydrates de carbone et la modification de la composition des crottes lors de caecotrophie cause l'implantation des bactéries nuisibles comme les clostridies. Les stress de toute nature et les antibiotiques qui sont les facteurs exogènes les plus importants dans la modification de la flore. Ces derniers, surtout lorsqu'ils sont administrés par voie orale, détruisent ou inhibent une partie de la population bactérienne. L'équilibre microbien est alors déplacé en faveur de germes résistants, jusqu'alors réprimés et éventuellement pathogènes, qui se mettent à proliférer. Ce sont par exemple des germes négatifs qui sont les clostridies et les colibacilles. Cette perturbation de la microflore bactérienne est alors à l'origine d'une diarrhée sévère et parfois mortelle.

IV. LA FLORE COLIBACILLAIRE DE LAPIN :

Les Colibacilles (*Escherichia coli*) sont des hôtes normaux de la flore intestinale de nombreuses espèces animales. Cependant certaines souches peuvent représenter un des agents étiologiques les plus importants de troubles intestinaux chez les animaux. Chez le lapin, la richesse de la flore colibacillaire est limitée : moins de 10^4 - 10^5 UFC d'*E. coli*/g de contenu caecal ; certains lapins n'hébergeant pas d'*E. Coli*. Par contre, tout dérèglement digestif peut se traduire par une sévère colidysbactériose, à savoir une forte élévation de la flore colibacillaire saprophyte jusqu'à 10^8 - 10^9 UFC d'*E. coli*/g de contenu caecal. Les *E. coli* responsables de diarrhées primaires ont été classés dans au moins cinq catégories.

I. HABITAT :

E. coli est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin (espèce aérobie dominante) à raison de 10^8 par gramme de fèces (flore totale : 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme

II. CARACTERE MORPHOLOGIQUE :

E. coli possède les caractères classiques des Entérobacteriaceae (Richard, 1989). C'est un bacille à Gram négatif, non sporulé, parfois capsulé, assez grand (1-1,5x2-6µm), non exigeant, aéro-anaérobie facultatifs cette structure est évidemment la même quelque soit la souche coli.

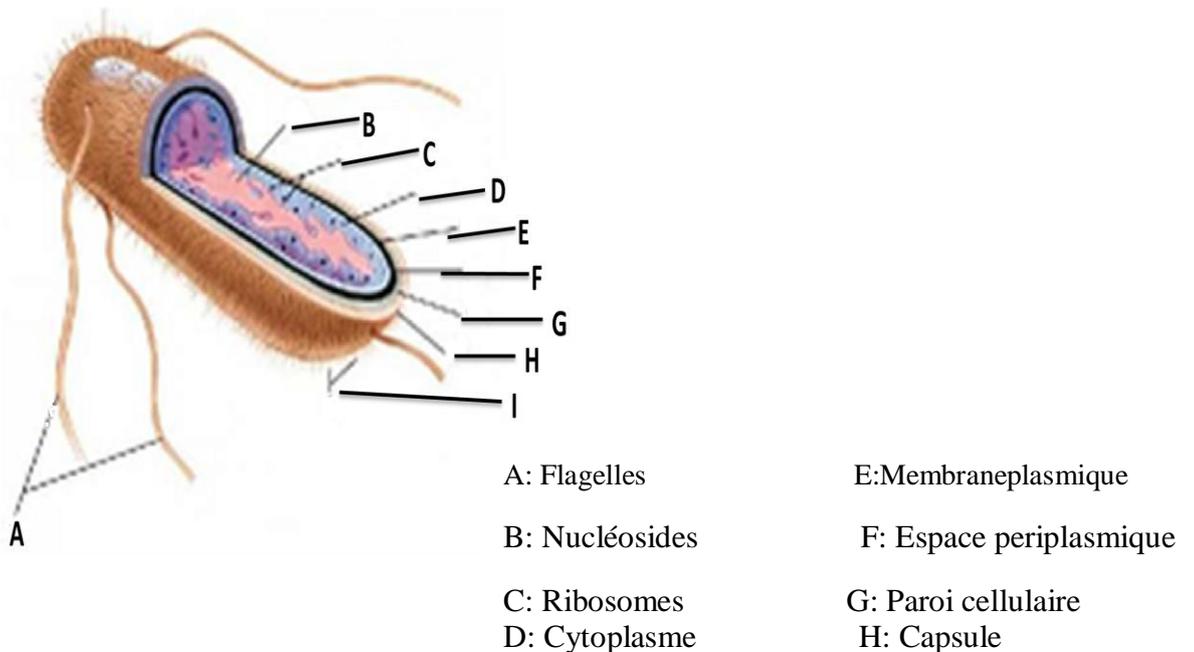


Figure 2 : Schéma de la structure microscopique d'*E. coli*
(Anonyme, 2011)

III. TAXONOMIE :

Escherichia coli décrite la première fois par le pédiatre allemand Theodor Escherichia en 1885 sous le nom de <Bacterium coli commune>, a fait l'objet d'un très grand nombre d'études dont la classification est la suivante : (Escherichia, 1885)

- Règne : Bacteria
- Embranchement : proteobacteria
- Classe : Gamma proteobacteria
- Ordre : Entérobacteriaceae
- Famille : Entérobactéries
- Genre : Escherichia
- Espèce : Escherichia coli (Boussena, 2006)

IV. PROPRIETES ANTIGENIQUE

Selon le schéma toujours en vigueur de Kauffmann (1947), est basé sur l'existence d'antigènes distincts que possède la bactérie :

- **les antigènes O ou antigènes somatiques** localisés au niveau de la paroi, de nature lipopolysaccharidique (LPS) et constituant l'endotoxine;
- **les antigènes K ou antigènes d'enveloppe ou de capsule** (divisés en plusieurs groupes suivant leur stabilité à la chaleur). Certains antigènes K sont des antigènes de fixation aux épithéliums, portés par des pili, de nature protéique et codés par des gènes plasmidiques (ex E coli K88 chez le porc, et K99 chez le veau);
- **les antigènes H ou flagellaires**, de nature protéique, sont présents uniquement chez les bactéries porteuses de flagelles, donc mobiles.

V. CLASSIFICATION D'E COLI PATHOGENE :

Les *E. coli* pathogènes du lapin appartiennent au pathovar EPEC (entéropathogenic *E. coli*). Ces colibacilles entéropathogènes du lapin (REPEC) sont comparables aux EPEC humains. Ils s'attachent à la muqueuse intestinale et provoquent des lésions spécifiques d'attachement/effacement (A/E) au niveau de la bordure en brosse des entérocytes (effacement des microvillosités).

TABLEAU I : Classification d'E coli pathogène

	<i>Syndrome clinique</i>	<i>Comportement vis-à-vis entérocytes</i>	<i>Facteurs de virulence</i>	<i>PM(MDa) des plasmides en cause</i>
<i>EPEC</i>	-fièvre, diarrhées aiguës et chroniques	-activité attachante-effaçant	facteur d'adhésion diffuse ou localisé	55à85
<i>ETEC</i>	-diarrhées sécrétoires -turista	-adhésion	- adhésion -toxine LT ou ST	27à88
<i>EIEC</i>	-dysenterie, diarrhée	-invasion, multiplication intercellulaire	-toxine Shiga-like	140
<i>EIEC</i>	Collite hémorragique -syndrome urémique et hémolytique	activité attachante-effaçant	- adhésion -cytotoxines Shiga-like (SLT1-SLT2)	60
<i>EAAGEC</i>	diarrhées sanglante -turista	-adhésion	Adhésion Agrégative pas de toxine	60

I. IMPORTANCE DE LA MALADIE :

La colibacillose est fréquente en cuniculture. Elle fait partie, avec les pasteurelloses et les staphylococcies, des grandes pathologies cunivole. Statistiquement, 20 % des élevages testés actuellement sur des échantillons de quelque 200 élevages portent et excrètent des colibacilles pathogènes. Ce nombre tend à diminuer ces dernières années.

Le danger des colibacilles pathogènes réside dans leur large diffusion dans l'élevage infecté: reproducteurs, lapereaux sous la mère et lapins d'élevage peuvent être simultanément touchés.

La maladie peut donc prendre une allure dramatique à caractère aigu ou chronique. La confirmation de "colibacillose vraie" doit se faire avec prudence et méthode. Elle est très aléatoire si l'on n'a pas vérifié le sérotype et le caractère pathogène du colibacille isolé. (SAMUEL B et Loïc N., 2002)

II. ORIGINE DE LA MALADIE :

La contamination se fait à partir d'animaux porteur qui excrètent le germe dans l'environnement polluent le matériel contaminent congénères et descendants. Les grandes flambées de colibacillose ont eu lieu vers les années 1987 à 1990 France.

Le germe est localisé dans le tube digestif ou les voies génitales. L'excrétion est parfois massive et on retrouve des colibacilles sur toutes les surfaces (sols, grillages, nids, eau). Les sérotypes principaux sont- en France par ordre de fréquence O₁₀₃, O₁₂₈, O₈₅ puis de façon plus discrète O₅, O₁₂₈, O₁₃₂ (SAMUEL B ET Loïc N)

III. SYMPTOMES :**III.1. symptomatologie générale**

La maladie se caractérise par un aspect épidémiologique caractéristique:

- mortalité des reproductrices (parfois des mâles) avec diarrhée
- mortalité des lapereaux au nid avec diarrhée.
- mortalité de lapins à l'engraissement à tous les âges avec diarrhée.

III.2 .Symptomatologie par catégorie

- Reproductrices: diarrhée brutale souvent autour de mise bas. les mâles sont plus rarement touchés.
- lapereaux au nid: très souvent les diarrhées surviennent dans les nids dans les

10 premiers jours après la mise bas en raison de l'excrétion par la mère du colibacille pathogène. Les lapereaux sont souillés, se refroidissent et meurent rapidement.

- les lapins a l'engraissement: mortalité a tout âge avec évolution et diffusion par cage.

IV. LESIONS :

Contenu intestinal et caecal liquide avec ou sans hémorragie. Congestion généralisée de l'intestin et du caecum avec traces hémorragiques en coup de pinceau. Sur le jeune lapereau sous la mère, on note, souvent des points de nécrose hépatique. Le parenchyme hépatique est alors parsemé de petits points blancs (nécrose). On le voit en examinant le foie à la lumière

V. INCIDENCE DES *E COLI* ENTEROPATHOGENES :

Peeters et al (1984), cherchant a évaluer la fréquence des principaux agents infectieux montrent que 72% des lapereaux malades analysés a partir de 21 élevages en Belgique sont porteurs d'une flore colibacillaire élevée et que pour 55% d'entre eux, il s'agit d'*E. coli* adhérant a la muqueuse intestinale. Les lésions sont retrouvées chez des lapins de tous ages mais sont beaucoup plus fréquentes chez des lapereaux juste sevrés (29-49 j). C'est le sérotype 015:h- qui prédomine en belgique et aux pays-bas (okerman, 1987; peeters, 1988).

En France, diverses enquêtes epidémiologiques font état de l'isolement d'*e coli* 0103, a partir de lapins atteints de diarrhées, variant de 30% (federighi, 1990) a plus de 50% (camguilhem et al, 1986b; camguilhem et milon, 1989). Quelques souches appartenant au sérogroupe 026, pathogène pour le lapin ont pu être isolées (camguilhem et milon, 1989).

D'autres souches pour lesquelles la mortalité, les pertes de poids et la diarrhée sont faibles, sont isolées moins fréquemment. il s'agit de souches appartenant aux sérogroupe 02, 0128, 0132. Le sérogroupe 015 est rare en france (camguilhem et milon, 1989; maire, comm pers).

okerman et devriese (1985) signalent que les sérogroupe 0128 et 0132 peuvent être isolés de lapereaux malades avant sevrage. cependant c'est le sérotype 0109:k-:h2 qui est le plus virulent, affectant surtout les lapereaux âgés de 2 a 12 j. tous les animaux d'une même portée peuvent mourir en 20 à 48 h ethorbar.

VI. CARACTERISATION DE LA SOUCHE :

Les différents pathotypes peuvent être différenciés sur la base de leur sérotype, de la mobilité des souches et du biotype

IV.1 Biotype :

Sur la base des travaux d’Okerman et Devriese (1985), plusieurs auteurs ont essayé de biotype, selon leur capacité à fermenter certains sucres, les *E. coli* isolés d’animaux malades. Okerman et Devriese signalent que les souches EPEC-like isolés de lapereaux avant sevrage appartiennent toutes au même biotype.

Peeters et al (1988) retrouvent des résultats identiques à partir de 568 souches et montrent que le degré de virulence est lié au sérotype et au biotype. Canguilhem et Milon(1989) rapportent que les souches de sérogroupes O103 et O26 vérifiées pathogènes pour lapin sevré sont rhamnose négatif(rha-).al ‘inverse, les souches vérifiées non pathogènes des même sérotype fermentent le rhamnose(rha+).ce critère s’annonce donc discriminant vis-à-vis de la virulence et peut être utilisé en vue du diagnostic.

IV.2 .Mobilité :

Contrairement à la souche rdec-1 et aux souches d’*E. coli* O15:h-:k- isolées en Belgique qui sont immobiles, toutes les souches O103 isolées en France sont mobiles (Peeters et al. 1988 ; Federighi., 1990).

IV.3. Antibiorésistance :

L’utilisation anarchique et abusive d’ATB par les éleveurs sans avis du médecin vétérinaire, a créé une résistance de souche REPEC, qui répercutée sur les pertes économiques majeures dans nos élevages et la flambée des prix dans le commerce.

Selon différents travaux cités dans la littérature plusieurs molécules sont déjà à proscrire et à éviter :

Tableau II : Situation de l’utilisation des antibiotiques chez le lapin en France d’après LICOIS., 1996.

Antibiotique	A proscrire	A éviter	utilisables chez le lapin	Posologie et voie d’administration
Bétalactamines (Lafargue-Hauret et al. 1994),	Pénicilline Amoxicilline Ampicilline			

Macrolides	Lindamycine Clindamycine Virginiamycine	Spiramycine, Tylosine Erythromycine (Schröder Et al, 1982)		- Orale -inférieur à 600ppm dans l'aliment (Mercier, 1992)
Association	Pénicilline +Colistine Pénicilline +Procaïne Chloramphénicol +Oxytétracycline +Prednisolone			
Chloramphénicol (Morisse, 1976),		Chloramphénicol		-orale (problème d'appétence)
Aminosides				
Polypeptides			Colistine	(colibacillose intestinale : 4à6mg/kg - 150à300ppm/5à7j)
Tétracyclines			tétracycline oxytétracycline	(troubles respiratoires : 30à50mg/kg/5j 0,2 à 0,5g/1300à500ppm/5à7j)
Quinolones			Fluméquine enrofloxacin	(troubles respiratoires ou digestif : 15à30mg/kg3à5j- 200ppm/5à7j) enrofloxacin (colibacillose intestinale : 50ppm/10j)
Nitrofuranes			Furazolidone	(troubles digestifs : 150ppm/7à10j)

VII. TRAITEMENT ET PREVENTION

VII.1 .TRAITEMENT :

Deux règles s'imposent

- La colistine, la gentamycine et l'enrofloxacin restent les molécules les plus employées.

- Il faut respecter les posologies et 9b. tenir une durée de traitement longue. éviter les guérisons provisoires et les rechutes par un traitement insuffisant ou mal "pilote".

Pour les cas aigus, on travaille en injection parentérale (sous-cutanée) associée a un traitement buvable. Pour les cas subaigus on préfère l'aliment médicamenteux associé ou non a des injections parentérales

VII.2. PREVENTION :

La prévention s'appuie sur un ensemble de mesures complémentaires.

❖ Dépistage des animaux porteurs

Notamment les reproducteurs présentant des entérites dans leur nid ou les reproducteurs ayant une mauvaise viabilité au nid associé à l'apparition de signes digestifs. Des examens bactériologiques doivent valider la suspicion.

❖ Préparation rigoureuse des futurs reproducteurs et quelques règles simples

- les choisir issus de portées a très bonne viabilité,
- les éleveurs en cage individuelle dès 11 semaines pour les protéger de leurs congénères,

- raisonner l'entrée en production en régulant les portées des jeunes femelles.

❖ nettoyage des locaux

❖ Équilibre du cheptel

- éviter les forts taux de renouvellement qui rajeunissent trop le cheptel et le fragilisent,
- interdire tout brassage de femelles entre maternité et engraissement. L'engraissement reste le lieu le plus contaminé de l'élevage.

❖ Prophylaxie médicale

Des cures médicamenteuses régulières (tous les deux mois) limitent l'excrétion du germe et régulent la pression microbienne de l'outil. de la même manière, l'automne reste une saison qui relance les accidents digestifs (écarts de température et forte humidité). cette période doit être anticipée (animaux fatigués par l'été, reprise de consommation). il faut intervenir dès les premiers signes de dérèglement.

❖ Vaccination

Des essais de vaccination dans l'eau de boisson avaient déjà eu lieu dans le passé. Aujourd'hui, les travaux des chercheurs ont avancé. on ne peut pas encore disposer d'un vaccin fiable et efficace mais des pistes existent. Ainsi, les travaux de l'équipe de Milon (laboratoire associé INRA/ENVT de microbiologie moléculaire) permettent d'espérer la mise au point d'une souche non pathogène, utilisable comme vaccin contre la colibacillose O 103, le vaccin est vivant et administrable par voie orale. D'autres travaux concernent un vaccin contre l'*E.coli* O 15 en Belgique. La mutagenèse de deux systèmes génétiques impliqués dans la pathogénicité du colibacille O103 (opéron codant pour l'adhésine af/r2et le système impliqué dans un effet cytopathique : ecp) a permis d'obtenir une souche de colibacille supposée non pathogène. L'inoculation expérimentale des deux souches de bactéries ainsi obtenues a des lapereaux sevrés a montré que le mutant n'exprimant plus af/r2présente un pouvoir pathogène résiduel. en revanche, le mutant n'exprimant plus l'ecp est dénué de toute pathogénicité et se pose en candidat a la vaccination.

VII. ENTERITE COLIBACILLAIRE DE SEVRAGE :

On appelle entérite colibacillaire de sevrage les désordres digestifs dus à la multiplication anarchique de colibacilles ordinaires survenant dans les 20 jours après le sevrage. Ce syndrome est fréquent et se remarque dans tous les élevages. Les conséquences sont très variables: morbidité et mortalité.

La crise d'adaptation existe toujours. L'influence sur la santé du lapereau dépend de sa qualité, de son régime alimentaire, ou des ses qualités d'adaptation. On peut estimer une courbe normale de mortalité sur la base de 0,5 % en première semaine, 1% en deuxième semaine, 1 % en troisième semaine. Dans un élevage instable, la mortalité peut atteindre de 5 % dans la semaine à 1% par jour. En dehors de la période de sevrage, c'est en période de transition alimentaire que le syndrome évolue (ex: passage à l'aliment dit blanc).

I. OBJECTIF

Le but de notre étude est d'isoler le germe *Escherichia coli* au niveau du foie des sujets présentant les lésions de colibacillose et le dénombrement des colibacilles dans le contenu caecal des mêmes sujets. Aussi, d'étudier la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis des molécules d'antibiotiques de différentes familles.

II. LIEU ET PERIODE D'ETUDE :

L'étude s'est déroulée sur une période de 3 mois à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) au niveau du laboratoire de microbiologie.

III. MATERIEL ET METHODES :

III.1.MATERIEL :

-Matériel de laboratoire

Les milieux de culture et les réactifs :

La liste ainsi que la composition des milieux de culture, bouillons et réactifs utilisés sont présentés en annexe I.

- Echantillonnage et prélèvement :

Les échantillons ont été prélevés sur des lapins de population locale issus de l'élevage rationnel de l'ENSV. 18 sujets morts (lapereaux) ont servis à cette étude. Ces animaux sont élevés dans des cages, avec des conditions d'environnement contrôlés.

Les 18 lapereaux morts avaient différents âges et présentés pour la pluparts un syndrome diarrhéique et une déshydratation chez les nouveaux nés.



Photo1: Syndrome diarrhéique chez lapereaux (photo personnel)

III.2. METHODES

Le protocole a été fait en deux étapes : une première étape qui a consisté à la réalisation d'une autopsie afin de rechercher des lésions au niveau de l'appareil digestif et une deuxième étape où une analyse bactériologique a été effectuée pour le diagnostic et le dénombrement des *E. coli*.

III.2. 1. autopsie

L'autopsie est une étape essentielle au diagnostic des pathologies cunicole. Elle nécessite à la fois une connaissance des techniques d'autopsie, de la topographie normale des organes, mais aussi des principales images lésionnelles que l'on peut rencontrer dans la pratique courante.

Le protocole d'autopsie que nous avons suivi au cours de notre travail est résumé dans les étapes suivantes :

- Lapin étant placé en position dorsale sur un plateau.
- Inciser la peau du Montan jusqu'aux périnées.
- Ensuite détacher la peau largement de façon à découvrir la proie abdominale.
- Examiner les organes en place couleur, consistances, volume
- Prélever aseptiquement le foie
- Placer l'organe dans un pot stérile

- Examiner le tube digestif avec toutes ses parties
- Prélever 1 g du contenu du caecal

Tableau III : Représentation de l'ensemble des sujets morts traités

Date	Robe	Identification	Lapereau (L)	Nouveau née (D)	Nombre
21-03-2013	Noir	LN1	+	-	1
	Gris	LG1	+	-	1
23-03-2013	Fauve	LF1	+	-	1
		DN1	-	+	2
	DN2	-	+		
	Fauve	DF1	-	+	2
		DF2	-	+	
	27-03-2013	Blanc	LB1	+	-
LF2			+	-	1
Noir		DF3	-	+	3
		DN3	-	+	
		DN4	-	+	
Fauve		DF3	-	+	2
		DF4	-	+	
			-	+	
			-	+	
Gris		DG1	-	+	2
		DG2	-	+	
20-04-2013		Noir	LN2	+	-
21-04-2013	Blanc	LB2	+	-	1

III.2.2. Analyse bactériologie

Cette analyse concerne l'isolement et l'identification d'*E. Coli* dans les deux types de prélèvements :

-Prélèvement de foie

-Prélèvement de contenu caecal

III.2.2.1. Analyse des prélèvements de foie

a. Préparation et enrichissement des échantillons :

Au laboratoire de microbiologie les lapins présentant les lésions évocatrices de colibacillose (08 sujets) ont servi à un prélèvement où une partie de foie a été est coupée stérilement en de petits dés à l'aide d'une pince et des ciseaux stériles.

Ces petits dés d'organes introduits dans le tube du bouillon BHIB puis incubé 18h à 24h à 37°C (photo2)



Photo 2 : Tube BHIBensemencé par les organes

(Photo personnel)

b. Isolement

L'isolement de la flore recherchée a été réalisé par l'ensemencement d'un inoculum prélevé de la culture BHIB sur la gélose MAC CONKEY, puis incubation pendant 18 à 24h à 37°C.

c. Identification macroscopique et microscopique

L'étape suivante concerne l'identification microbiologique. Elle permet d'orienter l'opérateur vers une classe bien définie de bactéries. Elle met en œuvre les réactions suivant :

1. Sur le plan macroscopique

Elle repose sur l'observation des colonies rondes et bombées, brillantes à bord net, de 2 à 3mm de diamètre, de couleur rose clair (lactose +) sur gélose de Mac Conkey

2. Sur le plan microscopique

Dans notre travail l'étude microscopique a été faite par une coloration de Gram afin de déterminer l'aspect pariétal et la morphologie bactérienne.

d. Identification biochimique :

d. 1. Test de K.I.A :

Certaines espèces peuvent être identifiées grâce à ce test.

Un tube de milieu K.I.A est ensemencé avec la souche à étudier (en stries centrales sur la pente puis en pique profonde dans le culot) et incubé 18h à 37°C. Ce test permet la mise en évidence de la fermentation du glucose, du lactose et du saccharose, avec ou sans dégagement de gaz.

La production d'H₂S, qui colore le milieu en noir, est due à la formation de sulfure de fer :

Pente \Longrightarrow Virage au jaune (lactose+)

\Longrightarrow Couleur reste rouge (lactose-)

Intermédiaire \Longrightarrow Virage au jaune (saccharose+)

\Longrightarrow Couleur reste rouge (saccharose-)

Culot \Longrightarrow Virage au jaune (glucose+)

\Longrightarrow Couleur reste rouge (glucose-)

Noircissement du milieu : \Longrightarrow production d'H₂S

Formation de bulles : \Longrightarrow production de Gaz

d. 2. Teste de l'uréase :

L'uréase est une enzyme responsable de la réaction suivante :



Cette activité enzymatique peut être mise en évidence en cultivant la souche à tester sur un milieu d'urée-indole contenant de l'urée, du tryptophane et du rouge phénol, qui est de couleur jaune à pH 6,8 et devient rouge à pH 8,4. Lorsqu'un organisme uréase positif croît sur un tel milieu, il libère de l'ammoniac qui alcalinise le milieu et entraîne un virage au rouge.

Dans le microtube contenant 1 ml du milieu urée-indole (figure), on ensemence, à l'aide d'une pipette Pasteur, une suspension bactérienne de la colonie suspectée et on incube à 37°C pendant 18 à 24 h :

Milieu devient rouge : réaction positive

Milieu reste jaune : réaction négative

d.3. Test de l'indole :

Il permet de savoir si un organisme peut produire de l'indole à partir de tryptophane grâce à un tryptophane .

Après la recherche de l'uréase, on rajoute 3 à 4 gouttes du réactif de Kovac's au milieu urée-indole. Le tube est fermé et le mélange est agité. La production d'indole résultant de la dégradation du tryptophane est traduite par la formation d'un anneau rouge à la surface.

Anneau rouge : réaction positive

Anneau jaune : réaction négative

d.4. Test du citrate

Certaines bactéries sont capables d'assimiler le citrate, c'est -à-dire capables d'utiliser le citrate comme unique source de carbone et d'énergie. Ces bactéries possèdent un citrate perméase et les enzymes du citrate.

Le milieu au citrate de Simmons, l'unique source de carbone est le citrate de sodium. Ce milieu contient également des sels d'ammonium comme unique source d'azote et du bleu de bromothymol comme indicateur de pH. Initialement, le pH du milieu est de 7,0 et à tel pH le bleu de bromothymol a une teinte verte.

L'utilisation de citrate se traduit par la libération des ions OH^- (négatifs) qui alcalinisent le milieu, en faisant virer la couleur verte du bromothymol au bleu.

III.2.2.2. Analyse des prélèvements de contenu caecal

Cette partie de l'analyse a été effectuée selon les normes AFNORE NF V08-060 /V08-17

a . Préparation des échantillons et test de présomption :

Au laboratoire de microbiologie, la pesé d'1g de contenu caecal a été prélevé dans des pots stériles auquel 9ml de TSE (Eau Salée au Tryptone) ont été rajouté. Cette solution dite mère a servi à la préparation des dilutions jusqu'au 10^{-6} dans des tube stériles. Après l'identification des boites, on dépose stérilement 1ml de chaque dilution. Ensuite on coule 15 ml de la gélose lactosée biliée au cristal violet et rouge neutre (VRBL) fondue et refroidie dans un bain marie. Après, on mélange en maintenant la boîte couverte sur la surface de la paillasse. On réalise 6 cercles de 150mm de diamètre environ dans le sens de l'aiguille d'une montre, puis 6 cercles dans le sens inverse , ensuite 6 cercles aller et retours de haut en bas tout en évitant la formation d'éclaboussures. Puis, on laisse refroidir. Une fois cette couche se solidifie, on rajoute la double couche. L'incubation se fait dans une étuve à 44°C pendant 48h.

b. Test de confirmation :

La confirmation est réalisé sur gélose éosine et bleu de méthylène (EMB). Après le test de présomption, on récupère les boîtes donnant un résultat positif pour repiquer deux colonies sur milieu (EMB) par l'anse de platine sous forme de stries. Puis on incube ces boîtes à 37°C pendant 24h.

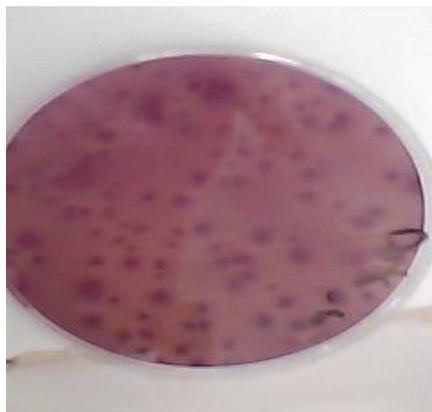


Photo 3 : colonies caractéristiques sur VRBL (photo personnelle)

c. Tests d'identification biochimique :

Les colonies caractéristiques isolées à partir du milieu EMB sont repiquées sur la gélose nutritive inclinée (GN) et incubées à 37°C pendant 24h. Une identification biochimique d'*E. coli* a été effectuée par les tests biochimiques IMVIC (indole, rouge méthyle, Voges-Proskauer, citrate de Simmons) Voir les identifications biochimiques précédentes .

IV. Etude de l'antibiorésistance des souches identifiées:

La sensibilité aux antibiotiques est déterminée par la méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Muller-Hinton, Institut Pasteur d'Algérie), selon les normes NCCLS (national committee for Clinical Laboratory Standards) qui est recommandée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et CA-SFM(Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie).

IV.1. Principe

La méthode de diffusion, ou antibiogramme standard, est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotique à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme, si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture.

Le tableau suivant représente les disques d'antibiotiques utilisés et leurs charges :

Tableau IV : Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme

Famille	Antibiotiques testés	Charge de disque	Signe
Bétalactamines	Amoxicilline	25	AX
	Ampicilline	10	AM
	Pénicilline	10	P
	Cephalotine	30	CZ
Aminosides	Streptomycine	10	S
	Néomycine	30	N

Tétracyclines	Tétracycline	30	TE
Polypeptides	Colistine	10	CT
Macrolides	Erythromycine	15	E
Quinolones	Acide nalidixique	30	NA

IV.2. Techniques :

La gélose (Muller Hinton) est coulée la veille en boîtes de pétri stériles, sur une épaisseur de 4mm ; les géloses sont séchées avant l'emploi (Photo 5).



Photo 4: Gélose de Muller Hinton coulé en boîte de Pétri (photo personnelle)

IV.3. Inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Décharger l'anse dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9% ;
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5Mc Ferland ; (la concentration utilisée était au 1/100)
- L'ensemencement doit se faire dans les 15mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

IV.4. Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;

- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

IV.5. Application des disques d'antibiotiques :

- Il ne faut pas mettre plus de 6 disques sur une boîte
- Les disques d'antibiotiques doivent être entre elles
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application. une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

IV.6. Incubation :

- 18 heures à 35°C.
- la durée d'incubation peut être prolongée dans certains cas : aminosides.

VI.7. Lecture :

- mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée ;
- comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition e, figurant dans les tables de lecture de
- classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

RESULTAS ET DISCUTION

Dans un premier lieu, les résultats sont basés sur l'observation des lésions et les symptômes de colibacillose et dans un second temps par l'étude de l'analyse bactériologique.

I. SYMPTOMES ET LESIONS

Tableau V : Les lésions et les symptômes observés à l'autopsie

Lésions et symptômes observés	Photos
<p>- Déshydratation sévère chez des nouveaux nés.</p>	 <p>Photo5 : Nouveaux nés déshydratés (photo personnel)</p>
<p>-Mortalité de lapereau avec apparition de diarrhée.</p>	 <p>Photo6 : Lapereau mort avec diarrhée (photo personnel)</p>
<p>- Congestion généralisée de l'intestin et du caecum avec des traces hémorragiques en coup de pinceau.</p>	 <p>Photo7 : Tube digestif congestionné (photo personnel)</p>

	 <p>Photo8 : ballonnement de l'abdomen (photo personnel)</p>
<p>-Le contenu caecal est de couleur noire avec présence des gaz.</p>	 <p>Photo 9: caecum d'un lapereau mort (photo personnel)</p>

II. RESULTATS DE L'ANALYSE DE LABORATOIRE :

II.1. Résultat obtenu à l'isolement sur Mac conkey des prélèvements du foie :

a. Résultats de l'étude macroscopique :

Parmi 08sujets de lapin mort prélevés et analysés on a trouvé 04prélèvements avec colonies caractéristiques après ensemencement sur gélose Mac Conkey soit un taux de 50% (figure3).

A la surface du milieu l'aspect macroscopique des colonies obtenues étaient rondes, bombées, brillantes à bord net de 2 à 3 mm de diamètre et de couleur rose (lactose+).

b. Résultat de l'étude microscopique :

Cette observation après coloration de Gram nous a permis de confirmer la présence de bactéries en forme de bâtonnet et à paroi Gram négative

c. Résultats de l'identification biochimique :

Concernant l'identification biochimique les caractères d'*E.coli* sont répertoriés en annexe III.

Parmi les 12 colonies caractéristiques identifiées (3 colonies repiquées pour chaque prélèvement) ,08 souches se sont révélées des *E. coli* et 04 appartiennent à d'autre genres d'entérobactéries. Ces résultats laissent apparaitre un taux de 66,66% d'*E. coli* et 33,33 % non *E. coli*.

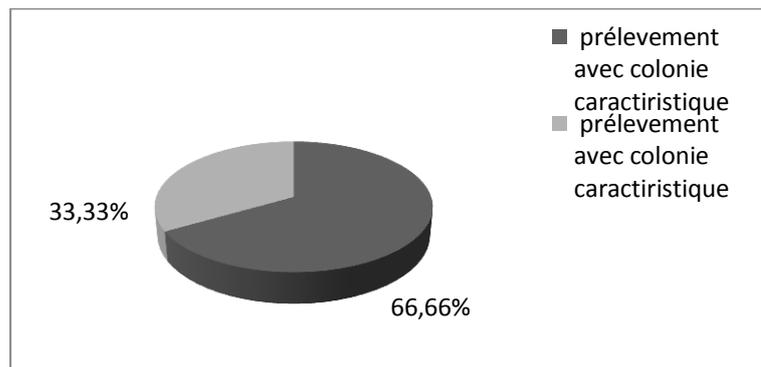


Figure3 : Pourcentage des prélèvements avec et sans colonies caractéristiques d'*E coli*

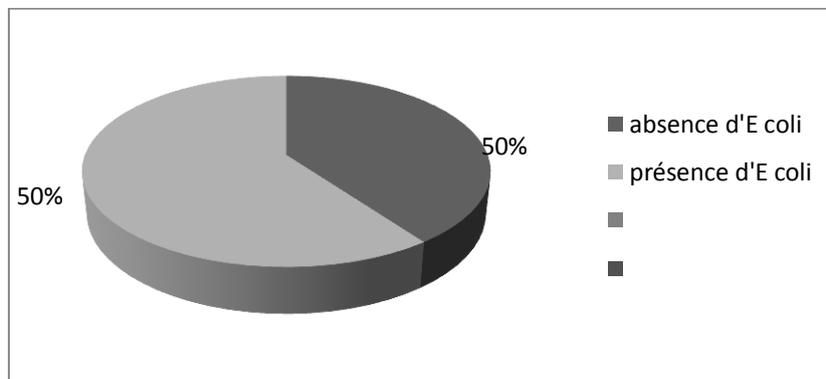


Figure4 : Pourcentage des souches d'*E. Coli* identifiées

Concernant les 08 prélèvements étudiés pour une suspicion de colibacillose sur l'ensemble des échantillons analysés, 04 ont montrés la présence d'une colibacillose par la présence du germe au niveau du foie. Ce nombre laisse apparaitre un taux de 22,22% de colibacillose parmi les 18 cas testés. Ceci révèle qu'au stade du diagnostic clinique les signes (symptômes, lésions) relevés ne permettent pas la confirmation de la maladie et restent des déclarations de suspicion (figure5).

Tableau VI: Les résultats comparatifs avant est après l'identification biochimique sur milieu Mac Conkey et EMB

Prélèvement	Présence de colonies caractéristiques Mac Conkey	Nombre de colonies prélevées	Nombre d' <i>E.coli</i> identifiée	Présence de colonies caractéristiques d' <i>E.coli</i> EMB
LN1	+	3	3	+
LG1	-	0	0	-
DN1	+	3	1	+
DN2	+	3	2	+
DF1	-	0	0	-
DF2	-	0	0	-
LF1	-	0	0	-
LN2	+	3	2	+
Total	50%	12	08	50%

II.2. Résultats de la recherche et dénombrement d'*E.coli* dans le contenu caecal :

Au test de présomption sur VRBL, 11 prélèvements sur les 18 traités ont montrés la présence de colonies caractéristiques dénombrables (figure5).

Après test de confirmation sur EMB toutes les boites ont présentées des colonies caractéristiques sauf pour un seul cas LG1 (tableau VI).

A la suite de l'identification biochimique, le calcul du nombre d'*E. Coli* a été interprété en appliquant la formule suivante : Selon la norme cité dans matériel et méthode

$$\frac{n_E \times n_d}{n_p} \times 10$$

OU

10^x est l'inverse du taux de dilution correspondant

n_E est le nombre de colonies *d'E coli* identifiées

n_d est le nombre de colonies caractéristiques dénombrés

n_p est les nombre de colonies caractéristiques prélevées

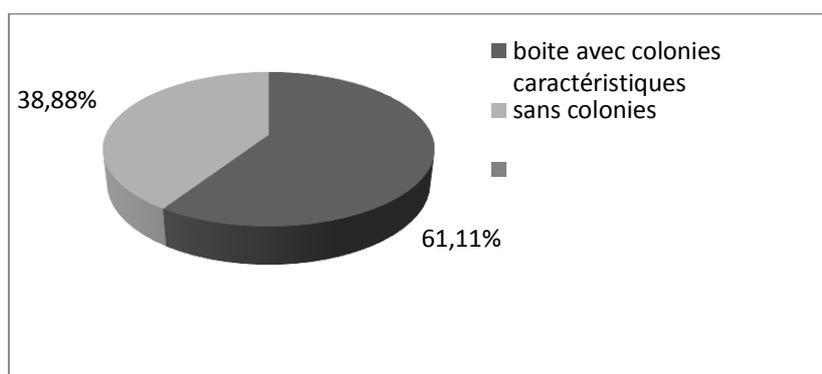


Figure5 : Pourcentage des prélèvements avec colonies caractéristiques sur VRBL

Tableau VII: Résultats de la recherche et dénombrement d'*E. coli* dans le contenu caecal

Identification	Présence de colonie D' <i>E.coli</i> Dans Le Contenu Caecal VRBL	Nombre De colonie D' <i>E.coli</i> Dans Le Contenu Caecal
DF4	+	10^3
LN1	+	6.10^4
DN5	+	3.10^8
DN4	+	3.10^8
DN3	+	3.10^8
DF3	+	$8,25 .10^6$
DN1	+	25
DF2	+	40
DN2	+	9.10^3
LB2	+	15.10^6
LF2	-	0
DN6	-	0
DF2	-	0
DF1	-	0
LF1	-	0
LB1	-	0

DG2	-	0
LN2	+	15.10⁶
Nombre : 18	11	

Tableau VIII: Résultats comparatifs entre le nombre d'*E.coli* dans le ceacum et présence de la colibacillose

Identification	Nombre De colonie D'<i>E.coli</i> Dans Le Contenu Caecal	Présence de Colibacillose
DF4	10³	-
LN1	6.10⁴	+
DN5	3.10⁸	-
DN4	3.10⁸	-
DN3	3.10⁸	-
DF3	8 ,25 .10⁶	-
DN1	25	+
DF2	40	-
DN2	9.10³	+
LN2	15.10⁶	+
LB2	15.10⁶	-

Selon ces résultats préliminaires, il est possible de déduire qu'en dehors des cas montrant une colibacillose on remarque la présence d'une entérite colibacillaire chez les sujets DF4, DN5, DN4, DN3 et DF3 soit un taux 27,77%. Ceci peut être du à un manque d'hygiène vue l'âge des animaux. Ces derniers tous nouveaux nés donc leur ceacum est dépourvu de colibacilles (Licois 2010). Chez le lapin la richesse de la flore colibacillaire est limitée : moins de 10⁴-10⁵ UFC/g de contenu ceacal (Licois 2010).

III. RESULTATS DE L'ETUDE DE L'ANTIBIORESISTANCE DES SOUCHES *D'E. COLI* :

L'ensemble des souches d'*E. Coli* isolées et identifiées du foie et du caecum ont fait l'objet d'un test d'antibiogramme. Cette étape a été réalisée pour évaluer la sensibilité de différentes souches aux 10 molécules d'ATB choisies et citées dans matériel et méthodes.

Les pourcentages des souches classés en sensibles, intermédiaires et résistantes aux différentes molécules d'ATB testés sont illustrés dans les figures 6 et 7. Voir (annexe).

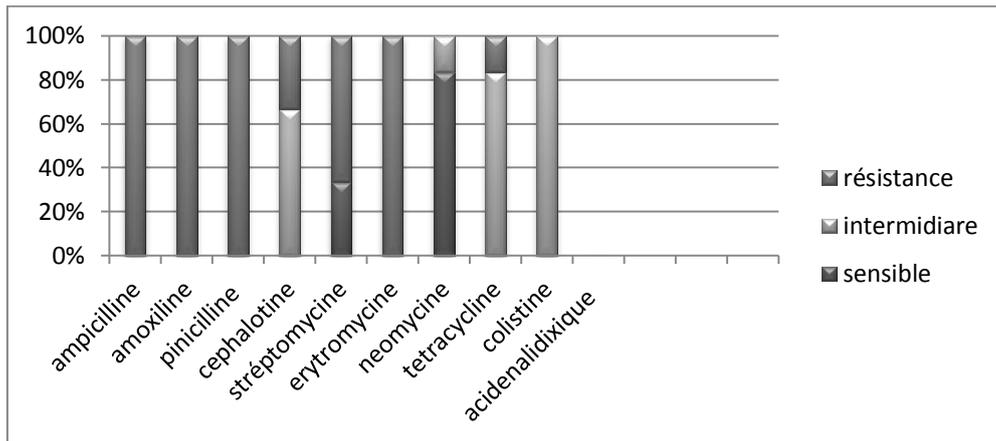


Figure6 : les pourcentages des souches classée en sensibles, intermédiaires et résistantes aux antibiotiques (foie)

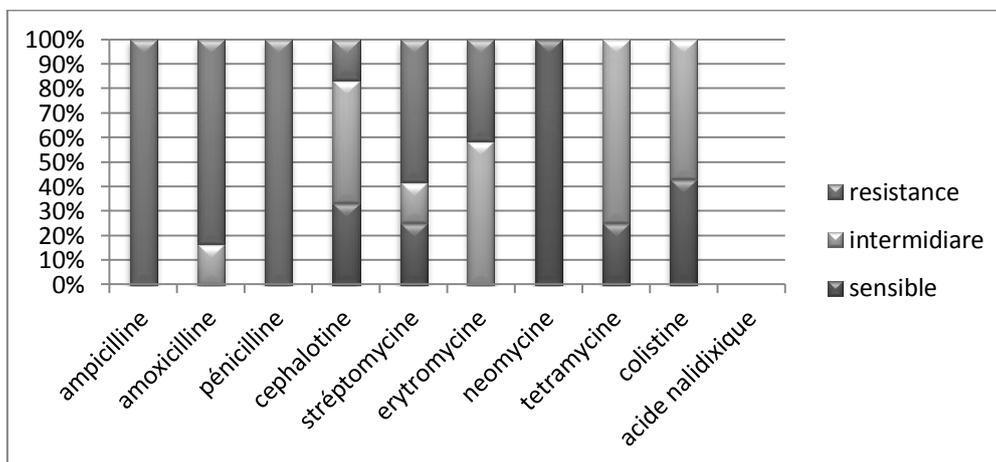


Figure7 : les pourcentages des souches classée en sensibles, intermédiaires et résistantes aux antibiotiques (caecum)

Nous remarquons que le taux de sensibilité les plus élevés concernant la néomycine suivi de cephalotine et colistine. Les molécules de tétracycline, streptomycine présentent les pourcentages plus faibles aux molécules précédentes.

Or les souches testées ont présentés un taux de résistance maximal de 100% pour amoxicilline, ampicilline, pénicilline. OKERMAN et DEVRIESE (1985), il y a quelques années déjà ont montré que 25% des souches isolées sont résistante à l'ampicilline et que cette résistance est codée par un plasmide autotransférable de haut poids moléculaire.

La colistine, la néomycine et céphalotine restent les molécules les plus efficaces avec 41,100 et 30% de souches sensibles.

Le diagnostic de la colibacillose se révèle difficile avec les moyens dont dispose nos laboratoires mais il est indispensable car il faut déterminer la forme de la colibacillose dans nos élevages, typer les colibacilles pour connaître les sérogroupes portés par les animaux et réaliser des antibiogrammes vue que toutes les souches présentent des résistances à l'un ou l'autre des antibiotique testés. Toute fois ces résultats Préliminaires doivent être compléter par un large diagnostic à savoir microbiologique histopathologique et sérologique avec plusieurs répétitions pour ce dernier.

Conclusion :

Les E. coli sont des entérobactéries commensales du tube digestif de l'animal et de l'homme.

Dans notre recherche, nous avons trouvé un taux de colibacillose sur un ensemble de prélèvements où on s'est basé sur les lésions caractéristiques de la colibacillose sur le foie et prélevé.

Cette étude a abouti à l'isolement et l'identification des souches E.coli.

L'évaluation de bactéries a révélé des taux alarmants de résistance vis-à-vis de l'ampicilline, pérévécilline, amoxicilline.

Néanmoins, une sensibilité plus élevée des sujets élevés des sujets atteints.

Le taux de résistance de ces souches doit être minimisé, afin d'améliorer le secteur avicole, pour cela nous recommandons :

- Sensibiliser les éleveurs sur l'impact de l'utilisation abusive d'ATB sans l'avis du vétérinaire.
- La vente des médicaments doit faire l'objet d'une ordonnance prescrite par le vétérinaire traitant.
- Une collaboration entre éleveurs et vétérinaires afin qu'il y ait une utilisation raisonnable des molécules d'ATB, selon leur mode d'action, leur spectre d'activité, leur action pharmacologique.
- Établir un diagnostic bactériologique, lors d'autopsie de carcasse avec lésions caractéristiques de colibacillose.
- Prescrire un traitement en parallèle de l'antibiogramme afin d'éviter les mortalités (pertes d'ordres économiques) et d'instaurer un traitement auxquelles la souche E.coli isolée lors de l'examen bactériologique est sensible.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

KAUFFMANN F (1947) The serology of the coli group. J /n/77uno/57, 71-100

CAMGUILHEM R., MILON A., Entérite du lapin à E. coli de prévention par vaccination INRA production animales,4,131,140 1991

FEDERIGHI M (1990) Rôle d'un plasmide de résistance aux antibiotiques dans le pouvoir entéropathogène d'une souche d'Escherichia coli 0103 chez le lapin après sevrage. Thèse, univ Clermont-Ferrand, 110 p

LEBAS F., COUDERT P., DE ROCHAMBEAU H., THEBAULT R.G., 1996. Nutrition et alimentation. In : *Le lapin : Elevage et pathologie*. FAO Eds, Rome, Italie : 21-50.

LICOIS D., COUDERT P., GUILLOT J.F., RENAUT L., 1982. Diarrhée expérimentale du lapin : étude de la pathologie due à des coccidies intestinales (*E. intestinalis*) et à des *Escherichia coli*. In : *3èmes Journées de la Recherche Cunicole en France*, 8-9 décembre, Paris, France

PEETERS J.E., CHARLIER G.J., HALEN P.H., 1984. Pathogenicity of attaching effacing enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from diarrheic suckling and weanling rabbits for newborn rabbits. *Infect. Immun.*, 46, 690-696.

CAMGUILHEM R., MUREAU G., NICOLAS J.A., BROCAS J., TOURNUT J., 1986. Groupage sérologique O et antibiosensibilité des souches d'*Escherichia coli* isolées en France sur les lapins diarrhéiques après le sevrage. *Revue Méd Vét*, 137 (3) : 205-212.

MORISSE J.P.1976. enquête sur l'utilisation pratique des antibiotiques chez le lapin. Tolérance bull. inform de la station d'aviculture de ploufragan 16(3)

MERCIER P, RIDEAU P, COUDERT TP.1992 Astudy of the pathogenic influences of pasteurella multocida, anexpremente to control the effets by spiramycin.J.appl.rabbit res 15,1401-1410.

LAFARGUE6HAURET P , JARRIN D, RICCAV. ROUILLERE H1994, toxicité de l'amoxicilline chez le lapin, 6^{ème} journée de la recherche cunicole.

MILLION, CAMGUILHEMR.1989b. VACCINATION DES LAPIN CONTRE L'entérite à E.coli O103 .nouveaux résultats Rev.Med, Vét, 140,835-3-839

SCERODER etAL, 1982. Untersuchungen uber die. Vertralic H kiet oraler antibiotika-medikation bein kaninchen

OKERAMAN L., 1987. Enteric infections caused by non-enterotoxigenic *Eschrichia coli* in animals:occurrence and pathogenicity mechanisms. A review. *Veterinary Microbiology*, **14:1**, 33-46

PEETERS ET AL 1988 biotype, serotype and pathogenicity of attaching and effacing enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic commercial rabbits. *Infect. Immun.*, 56, 1442-1448

OKERMAN L., ET DEVRIESE LA 1985. Biotypes of enteropathogenic *E.coli* strains from rabbits. *J.Clin.Microbiol.* 22,955-958.

federighi, 1990)

Gallois, 2006).

ANNEXE

ANNEXE I

Les milieux de culture : utilisés lors de notre expérimentation sont les suivants :

1. BHIB (Brain Haert Infusion Broth) est un milieu d'enrichissement pour les E coli
2. Gélose nutritive, milieu convenant à la culture des bactéries
3. Mac Conkey, milieu d'isolement des bactéries lactose+
4. Milieu Mueller Hinton utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme

Pour l'identification biochimique, nous utilisons :

1. Milieu de Kliger Hajna Glucose Lactose H₂S(K.I.A)
2. Milieu Urée-Indole
3. Milieu de citrate

Produits de laboratoire :

1. Alcool 70°
2. Eau physiologique 0,9%
3. Réactif Kovac's
4. Ecouillons disque d'antibiotique

ANNEXE II

Etapes de la coloration de Gram :

1. Coloration par le violet de gentiane pendant 1 minute
2. Fixation au lugol (solution d'iode-iodurée) laissez agir 1 mn ; rincez à l'eau robinet
3. Décoloration (rapide) à l'alcool : versez goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveillez la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincez sous un filet d'eau robinet.
4. Recoloration à la fuchsine. Laissez agir de 1 minute. Lavez doucement à l'eau . séchez la lame.
5. L'identification est basée sur l'observation microscopique avec une goutte d'huile à immersion (x1.000) de bacilles fins, de 0,5 µ de diamètre sur 2 à 3 µ de long et dont la coloration rose (Gram est négative)

ANNEXE III

Tableau VI: caractères biochimique d'E.coli

Milieu	K IA				Citrate	Urée-Indole	
Test	Glu	Lac	Gaz	H ₂ S	Cit	Urée	Indole
Résultat	+	+	+	-	-	-	+

	<i>Résistance</i>		<i>intermédiaire</i>		<i>sensible</i>	
	<i>Nbr</i>	<i>%</i>	<i>nbr</i>	<i>%</i>	<i>nbr</i>	<i>%</i>
AM	12	100%	0	0%	0	0%
S	7	58,33%	2	16,66%	3	25%
AX	10	83,33%	2	16,66%	0	0%
CZ	2	16,66%	6	50%	4	33,33%
E	5	41,66%	7	58,33%	0	0%%
CT	5	41,66%	3	33,33%	4	25%
TE	0	0%	9	75%	3	25%
NA						
P	12	100%	0	0%	0	0
N	0	0%	0	0%	12	100%

Tableau VII : le pourcentage de résistance et sensibilité des souches isolés (caecum)

	<i>Nbr</i>	<i>%</i>	<i>nbr</i>	<i>%</i>	<i>nbr</i>	<i>%</i>
AM	6	100%	0	0%	0	0%
S	4	66,66%	0	0%	2	33,33%
AX	6	100%	0	0%	0	0%
CZ	2	33,33%	4	66,66%	0	0%
E	6	100%	0	0%	0	0%
CT	0	0%	6	100%	0	0%
TE	1	16,66%	5	83,33%	0	0%
NA						
P	6	100%	0	0%	0	0%
N	0	0%	1	16,66%	5	83,33%

Tableau VIII : le pourcentage de résistance et sensibilité des souches isolés (foie)

Résumé :

La colibacillose est l'une des plus importantes causes de pertes économiques dans le secteur cunicole. Elle est d'origine bactérienne constitue un des problèmes majeurs chez les lapins et entraîne des taux de mortalité considérable.

Les entérites bactériennes peuvent être dues à la présence d'*Escherichia coli* de sérotypes pathogènes ou à la prolifération anormale de colibacilles habituellement non pathogènes. L'objectif de notre étude est de déterminer le type de la colibacillose. Ce travail a été réalisé par le dénombrement des *E. coli* isolées et identifiées avec l'évaluation de leur antibiorésistance chez 19 lapins morts dans l'élevage de l'ENSV.

Les résultats obtenus montrent la présence d'*E.coli* avec des chiffres supérieurs à 10^8 UFC par gramme de fèces. Sachant qu'un intestin de lapin sain n'excède pas 10^4 . Ce nombre élevé confirme la présence d'une gastro-entérite due à *E.coli* surtout au sevrage qui en relation étroite avec le changement alimentaire et la variation de plusieurs facteurs de l'environnement. A l'exception de la néomycine où les taux de sensibilité étaient élevées. La résistance de l'ensemble des souches a été multiple pour différentes molécules d'antibiotiques, 100% pour les molécules suivantes ampicilline, pénicilline et Amoxicilline. Ceci s'explique par l'utilisation en continue de ces différentes molécules dans les élevages cunicoles vu la sensibilité de l'animal. Les résistances mises en évidence montrent l'utilité d'un examen bactériologique conjoint à la prescription afin de pouvoir adapter le traitement en cas de résistance d'*E.coli* aux antibiotiques choisis.

Mots clés : Colibacillose, lapin, lésions, *E. coli*, antibiorésistance.