République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

الوزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de

Doctorat Es-Sciences

***Option* : Elevage, Pathologie et Industrie des animaux de basse-cour**

Thème :

Etude bactériologique et moléculaire des souches *Escherichia coli* aviaires responsables de colibacillose chez le poulet et dinde de chair

Soutenu par : *MESSAÏ Chafik Rédha*

Devant le jury composé de :

Dr BENDEDDOUCHE B. Professeur	**ENSV Alger**	**Président**
Dr KHELEF D. Professeur	**ENSV Alger**	**Directeur de thèse**
Dr HAMDI T-M. Professeur	**ENSV Alger**	**Co-directeur de thèse**
Dr AIT OUDHIA K. Maître-conférence classe A	**ENSV Alger**	**Examinatrice**
Dr HAKEM A. Maître-conférence classe A	**Université de Djelfa**	**Examinateur**
Dr AOUN L. Professeur	**Université d'El TARF**	**Examinatrice**

Année Universitaire 2015/2016

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers :

A mes parents Mustapha et Leila, pour avoir toujours cru en moi, et qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de mes études, que Dieu les garde et leur procure santé et longue vie.

A la mémoire de mes grands-parents :

Lakhdar et Ahmed

Aicha et Louisa

A mon frère, l'unique et le seul Ramzi

A mes sœurs Ryma et Dalal

A mon oncle Hacéne et ma Tante Dalila

A mes cousins et cousines Adlène, Soumaya et Hania

A mon oncle Rabah Acid

A tous mes oncles et tantes et tous les cousins et cousines

A toute la famille Messai et Acid

Remerciements

La réalisation d'une thèse n'est pas seulement un travail de longue haleine mais aussi une formidable expérience scientifique. Bien que délicate, l'écriture des remerciements est un élément indispensable pour témoigner ma profonde reconnaissance à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères remerciements aux membres du jury :

- Professeur BENDEDDOUCHE B, directeur de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire pour m'avoir fait l'immense honneur d'accepter la présidence du jury de ce doctorat. Hommages respectueux.

- Dr AIT OUDHIA K, Maître de Conférences A à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire pour l'honneur qu'elle ma fait d'accepter de juger ce travail, pour ses conseils pertinents et pour ses encouragements, et pour son aide. Sincères remerciements.

- Dr BOUZID R, Maître de Conférences A à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire pour l'intérêt qu'il a porté à cette thèse en acceptant d'être membre du jury.

- Dr AOUN L, Professeur à l'université Chadli Bendjedid d'EL TARF pour avoir accepté d'examiner ce travail. Sincères remerciements.

- Dr HAKEM A, Maître de Conférences A à l'université Zian Achor de Djelfa pour avoir accepté de juger ce travail, Sincères remerciements.

- Dr HAMDI TM, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, pour avoir co-encadré ce travail. Sincères Remerciements.

Mes remerciements s'adressent également à mon directeur de thèse, Professeur KHELEF Djamel, pour avoir accepté de diriger ce travail et assurer mon encadrement et mon initiation à la recherche scientifique, pour ses précieux conseils et pour ses encouragements, pour votre rigueur scientifique, vos précieux conseils et votre disponibilité qui m'ont permis de mener à bien ce travail, Sincères remerciements.

Je ne peux pas m'en tenir aux remerciements purement académiques et s'il y a une personne que je veux absolument remercier, c'est bien professeur Touabti Abd Rezak, Médecin Chef du Laboratoire Central du CHU de Sétif et Professeur Sahli Médecin microbiologiste pour

m’avoir permis de travailler au sein du Laboratoire de Microbiologie. Si j’en suis là aujourd’hui, vous y avez largement contribué.

Ma reconnaissance va particulièrement au Dr RADJI Nadia, pharmacienne spécialiste en microbiologie au Laboratoire de Microbiologie du CHU de Sétif, pour sa disponibilité, ses conseils et toute l’aide qu’elle ma apportée avec ses connaissances en microbiologie.

Je tiens à remercier vivement Mme Tali Maamar H Professeur à l’institut pasteur de Dely Brahim ainsi que ses techniciennes Assaous F et Tahrat N, pour la partie de biologie moléculaire Hommages respectueux.

Un grand et sincère merci pour Dr Chorfa A et Dr Guechtouli S, et Chenouf NS pour votre aide et votre disponibilité qui m’ont permis de mener à bien ce travail. Sincères remerciements.

Je tiens à remercier le Directeur de l’abattoir avicole de Sétif, M. Samir le Vétérinaire de l’abattoir Dr Chouar H et le Chef de production M. Khaled, de m’avoir permis l’accès à l’abattoir, de travailler dans les meilleures conditions et pour leur gentillesse.

Je tiens à remercier mes amis, Chelghoum H, Mezah W, pour leurs conseils et leur soutien moral. Vous êtes comme des frères pour moi.

Un grand et sincère remerciement à M. Saadi Ahmed, du Laboratoire de parasitologie et Mme Boudjelal Louiza, du laboratoire d’HIDAOA à l'ENSV, ainsi que M. KADDOUR, du laboratoire d'histopathologie, pour leur aide. Sincères remerciements.

Je tiens à remercier tout les membres du Laboratoire de Microbiologie du CHU de Sétif, M Ibrahim, M Mustapha, M Refoufi K, Dr Khalissa, Mme Bounacheda N, Mme Zhor et Mme Refoufi K.

Je tiens à remercier aussi les agents de la bibliothèque de l’ENSV : Derami H, Tchikou F, et Yacine.

Enfin, je voudrais remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé :

A partir de 236 foies et rates des poulets malades, nous avons isolé 200 souches d'*E. coli* sur gélose Mac Conkey et Hektoën après enrichissement sur milieu BHIB. Nous les avons ensuite identifiées biochimiquement sur milieu par le système Api 20 E. L'antibiogramme a été effectué selon la méthode de diffusion de disques sur gélose Muller Hinton selon les normes du NCCLS recommandées par l'OMS. La recherche de souche BLSE à été faite par le test de synergie selon Jarlier et confirmée par le test du double disque, et la recherche des gènes ctx m1, ctx m 2, ctx m8, ctx m9, shv et tem de resistance a été faite par PCR. Nos résultats montrent des taux élevés de résistance vis-à-vis de : l'amoxicilline/ ac clavulanique 78%, l'ampicilline 83,5%, l'acide nalidixique 96%, le sulfaméthoxazole 77,5%, l'enrofloxacine 67%, la tétracycline avec 97%. Des pourcentages moyens sont retrouvés pour le chloramphénicol 23%, les nitrofuranes 36% et la néomycine 33,5%, et de faibles fréquences de résistance pour la gentamycine 6,5%, et la colistine 1%. Sur les 200 souches 99% d'entre elles sont résistantes à au moins 2 antibiotiques alors que plus de trois quart 76% d'entre elles sont résistantes à au moins 5 antibiotiques. Nous avons identifié 62 antibiotypes différents, dont 15 sont présents de manière significative et présentent de larges phénotypes de résistance. Nous avons aussi mis en évidence une co-résistance et 48,5% de nos souches l'exprime. Le sérogroupage de nos souches a révélé que 29,5% sont O1, 34,5% sont O2, 14% sont O78 et 22% ne sont pas typable. Six de nos souches ont été détectées blse par le test de synergie et confirmées par le test du double disque, la caractérisation moléculaire de ces souches a révélée que ces six souches hébergent le gène ctx m1 qui code pour la blse CTXM1 soit une prévalence de 3% et sont négatives aux autres gènes. En conclusion, il ressort clairement de cette étude que les antibiotiques sont de moins en moins efficaces contre les colibacilles. Il est plus que jamais nécessaire d'effectuer des tests de sensibilité aux antibiotiques avant le traitement afin de prescrire la molécule de choix, et la mise en place un programme de surveillance en Algérie pour suivre l'évolution de la résistance aux antimicrobiens des bactéries pathogènes qui pourraient potentiellement être transmis aux humains par les denrées alimentaires d'origine animale.

Mots clés : colibacillose, *E.coli*, Sérogroupe, Antibiorésistance, Blse, Antibiotypes, *blactx m1*, Centre et Est d'Algérie.

Abstract

From 236 livers and spleens sick chickens, we isolated 200 strains of *E. coli* on Mac Conkey agar and Hektoën after enrichment on BHIB environment. We then identified biochemically by the middle of Api system 20 E. Antimicrobial susceptibility was performed according to the Muller Hinton agar disk diffusion method according to standards NCCLS recommended by WHO. Search ESBL strain was made by the synergy test according Jarlier and confirmed by testing the double disc, and the search for antibioresitance genes to ctx m1, ctx m 2, ctx m8, ctx m9, shv and tem was made by PCR. Our results show high rates of resistance to: amoxicillin / clavulanic ac 78%, 83.5% to ampicillin, 96% to nalidixic acid, 77.5%, to sulfamethoxazole, 67% to enrofloxacin and tetracycline with 97%. Average percentages were found for the chloramphenicol 23%, to nitrofurans 36% and 33.5% against neomycin, and low frequency of resistance to gentamicin 6.5% and 1% to colistin. Of the 200 strains 99% of them are resistant to at least two antibiotics as more than three quarters 76% of them are resistant to at least five antibiotics. We identified 62 different *E.coli* pattern, 15 of which are significantly present, with wide resistance phenotypes. We also highlighted a co-resistance and 48.5% of our strains express it. The Serogrouping of our strains revealed that 29.5% are O1, O2 are 34.5%, 14% are O78 and 22% are not typable. Six of our strains were detected ESBL by the synergy test and confirmed by the test for the double disc, the molecular characterization of these strains revealed that these six strains harbor the ctx m1 gene which codes for ESBL CTXM, a prevalence of 3% and are negative for other genes. In conclusion, it is clear from this study that antibiotics are becoming less effective against *E. coli*, it is more than ever necessary to conduct sensitivity tests to antibiotics before treatment to prescribe the molecule of choice, and the establishment in Algeria a surveillance program to monitor antimicrobial resistance of pathogenic bacteria that could potentially be transmitted to humans through food of animal origin.

Keywords: colibacillosis, *E. coli* Serogroup, Antibiotic resistance, ESBL, *E. coli pattern*, blactx m1, Middle and East Algeria

ملخص

من 236 كبد والطحال الدجاج ألمريضة تم عزل 200 سلالات القولونية « *اشيريشيا كولي* ***E. coli*** » *من* ماكونكي أجار وهكتوان اجار بعد التخصيب على .BHIB ثم تم تحديد الخصائص الكيميائية بنظام .API 20 E . تم إجراء اختبار الحساسية بطريقة نشر القرص على أجار مولر هينتون وفقا للمعاييرNCCLS التي أوصت بها منظمة الصحة العالمية. والبحث عن السلالات المنتجة للانزيمات بيتا لاكتاماز مع الطيف الموسع باختبار التآزر وفقا Jarlier وأكدنا من خلال اختبار القرص المزدوج، وقدم البحث عن الجيناتctx M1 ، ctxم 2، M8 ctx، M9 ctx، shv وتيم المقاومة بواسطة .PCR نتائجنا تظهر ارتفاع معدلات المقاومة: أموكسيسيلين حامض كلافيلنيك 78 ٪، 83.5٪ الأمبيسلين، حمض النااليديكسيك 96٪، 77.5٪، سلفاميثوكسازول، إينروفلوكساسين 67 ٪، التتراسيكلين 97٪. تم العثور على متوسط النسب المئوية لل23٪ الكلورامفينيكول، نتروفيران 36 ٪ و 33.5٪ النيوميسين، والتردد المنخفض للمقاومة جنتاميسين 6.5٪، 1٪ وكوليستين. من 200 سلالات 99٪ منهم مقاومة لاثنين على الأقل من المضادات الحيوية أكثر من ثلاثة أرباع 76٪ منهم مقاومة للا يقل عن خمسة المضادات الحيوية. حددنا 62 نمط للمقاومة مختلفة، 15 منها موجودة بشكل ملحوظ، مع الظواهر مقاومة واسعة. سلطنا الضوء أيضا على مقاومة مشتركة، و 48.5٪ من السلالت تملكها. كشفت اختبارا المصلي لسلالاتنا أن 29.5٪ منO1 ، و 34.5 من O2 ، و 14٪ من O78 و 22٪ لا تنتمي لهذه المجموعات ألمصلية تم الكشف عن ست سلالات المنتجة للإنزيمات بيتا لاكتا ماز مع الطيف الموسع بواسطة اختبار التآزر وأكدنها باختبار للقرص مزدوج كشف التوصيف الجزيئي لهذه السلالات نجد أن هذه السلالات ستة تؤوي M1 الجينات ctx التي ترمز للإنزيم بيتا لاكتا ماز مع الطيف الموسعCTXM1 بنسبة انتشار من 3٪ وهي سلبية للجينات أخرى. في الختام يبدو واضحا من هذه الدراسة أن المضادات الحيوية أصبحت أقل فعالية ضد *اشيريشيا كولي* . هو أكثر من اللازم من أي وقت مضى لإجراء اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية قبل العلاج لوصف مضاد الحيوي ألمناسب وإقامة في الجزائر برنامج مراقبة لمراقبة مقاومة مضادات الميكروبات من البكتيريا المسببة للأمراض التي من المحتمل أن تكون ينتقل إلى الإنسان عن طريق الغذاء من أصل حيواني.

كلمات المفتاح : داء العصيات ألقولونية, *اشيريشيا كولي* ,المجموعة ألمصلية, نمط المقاومة ,مقاومة المضادات ألحيوية للإنزيمات بيتا لاكتا ماز مع الطيف الموسع ، blactx M1 ,وسط و شرق الجزائر.

SYMBOLES

% : pourcentage
< : Inferieur
> : Supérieur
° : Degré
°C : Degré Celsius
µ : micron
µg : microgramme
µM : micro mole
AE : Lésions type Attachement-Effacement
AFSSA : Agence Française Sécurité Sanitaire Aliment
ANMV : Agence National Médecine Vétérinaire
APEC : *Escherichia coli* pathogènes aviaires
Api 20 E : Api 20 Entérobactéries
ATB : Antibiotique
ATCC : American Type Culture Collection
bla ctx m : gène codant pour la betalactamase type CTX M
BLSE : betalactamase à spectre étendu
D-ala-D-ala : D- alanyl-D-analine
E. coli *: Escherichia coli*
ECAD : *E. coli* à adhésion diffuse
ECEAg : *E. coli* entéroagrégatifs
ECEH : *E. coli* entérohémorragiques
ECEI : *E. coli* entéroinvasifs
ECEP : *E. coli* entéropathogènes
ECET : *E. coli* entérotoxinogènes
ExPEC : *E. coli* pathogènes Extra intestinale
GAE : Groupe Avicole Est
GEI : Gastro-entérite Infantile
Gram- : Gram négative
h : heure
I : Intermédiaire
I : intermédiaire
IM : intra musculaire
kg : Kilogramme
LPS : Lipopolysaccharide
m^2 : mètre carré
Mc Farland : Mac Farland
mg : milligramme
ml : millilitre
mm: millimètre
mn : minute
NM : Nom Mobile
O : antigène somatique LPS
ORAVIE : Office Régional Avicole Est
p: Seuil de signification
PEMS : Poult Enteritis Mortality Syndrom (syndrome entérite frilosité, baisse de croissance)
PLP : Protéine Liaison Pénicilline
R : Résistant
S : Sensible
SC : sous cutané
SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique
shv : gène codant pour la betalactamase type SHV
Spp : sous espèce
STEC : SHIGA toxine *E. coli*
Stx : Shiga toxine
tem : gène codant pour la betalactamase type TEM
UI : unité internationale
VT : Vérotoxines

Liste des tableaux

Tableau 1	Caractères biochimiques différentiels du genre *Escherichia* et genres d'*Enterobacteriaceae* proches	**05**
Tableau 2	Pathovars les plus importants et facteurs de virulence d'*E. coli* causant la maladie chez l'espèce aviaire	**11**
Tableau 3	Diagnostic différentiel de la colibacillose aviaire	**28**
Tableau 4	Classification de Bush Jacoby Meideros des bétalactamases	**43**
Tableau 5	Localisation des différents élevages concernés par l'étude	**53**
Tableau 6	Caractères biochimiques recherchés par les milieux TSI et Urée-Indole	**64**
Tableau 7	Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme	**74**
Tableau 8	Application des disques d'antibiotique par boîte de pétri	**76**
Tableau 9	La composition du mélange des réactifs « le MIX ».	**82**
Tableau 10	Liste des amorces utilisées pour la PCR	**82**
Tableau 11	Les cycles de la PCR *tem et shv*	**82**
Tableau 12	Les cycles de la PCR *ctx m.*	**82**
Tableau 13	Répartition et fréquence des différentes lésions de colibacillose	**87**
Tableau 14	Pourcentage des entérobactéries isolées lors de notre étude.	**90**
Tableau 15	Différentes agglutinations des sérogroupes d'*E. coli.*	**92**
Tableau 16	Nombre et fréquences des sérogroupes des souches *E.coli* isolées.	**93**
Tableau 17	Fréquences des différents sérogroupes rencontrés dans notre étude et autres auteurs.	**94**
Tableau 18	Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *E. coli*	**97**
Tableau 19	Fréquences d'antibiorésistance dans notre étude et pour d'autres auteurs.	**99**
Tableau 20	Pourcentages de multirésistance des souches *E. coli* aux antibiotiques.	**108**
Tableau 21	Fréquence de multirésistance dans notre étude et pour divers auteurs.	**109**
Tableau 22	Principaux antibiotypes d'*E coli* isolés	**112**
Tableau 23	Fréquence des souches *E.coli* productrices de BLSE.	**117**
Tableau 24	Antibiotypes des souches *E.coli* BLSE isolées.	**119**
Tableau 25	Fréquence des gènes BLSE dans notre étude et autre auteurs	**121**

Liste des figures

Figure 01 : Représentation schématique des étapes impliquées dans la pathogénie d'infection due à différent pathovars d'*E. coli* chez les animaux **12**

Figure 02 : Différent mode d'action des antibiotiques **33**

Figure 03 : *Action des antibiotiques sur la synthèse protéique* **35**

Figure 04: Action des sulfamides sur les métabolismes intermédiaires **37**

Figure 05: Inactivation enzymatique des antibiotiques par les β-lactamases **41**

Figure 06 : Schéma Ambler de classification des BLSE **42**

Figure 07: Phylogénie de BLSE. Des séquences représentatives de diverses BLSE ont été obtenues à partir de GenBank **47**

Figure 08 : Excrétion de l'antibiotique par efflux actif **50**

Figure 09: Prélèvements d'organes dans les pots stériles **54**

Figure 10 : Tubes de disques imprégnés d'antibiotiques pour antibiogramme **55**

Figure 11: Découpage des organes en de p'tit dés. **58**

Figure 12: Tubes de BHIB ensemencés par les organes coupés en p'tit dés **59**

Figure 13: Colonies de *E.coli* sur gélose Mac conkey **60**

Figure 14: Colonies d'E.coli sur gélose sur gélose Hektoen **60**

Figure15 : Mise en évidence de la catalase chez *E.coli* **61**

Figure 16 : *E.coli* et autres entérobactéries sur milieu TSI **62**

Figure 17 : Milieu urée-indole, tube de gauche (urée- indole+) tube de droite urée+ **63**

Figure 18 : Galerie API 20 E après incubation 18 h à 37°C et après ajout des réactifs **69**

Figure 19 : Réactifs monovalents *E.coli* aviaire (O1, O2, O78) **71**

Figure 20 : Lame de sérotyapage 8 puits **71**

Figure 21 : Revivification des souches *E.coli* a partir du milieu de conservation sur BHIB **71**

Figure 22 : Colonies *d'E.coli* sur gélose tryptocaséine soja **72**

Figure 23 : Suspension bactérienne dense de 0.5 Mc Farland pour antibiogramme **75**

Figure 24 : Application des disques dans les deux boites de l'antibiogramme **76**

Figure 25 : Application des disques pour la recherche de betalactamase **78**

Figure 26 : Test du double disque application d'AMC et CTX à une distance de 30 mm **80**

Figure 27 : Test du double disque remplacement du disque d'AMC par CTX après 1h incubation à température ambiante **80**

Figure 28 : Lésion d'aérosacculite. SA : sac aérien **84**

Figure 29 : Lésion d'aérosacculite. **ASF** : aérosacculite fibrineuse **84**

Figure 30 : Péricardite. **LSP** : Liquide séreux dans le sac péricardique **85**

Figure 31 : Péricardite chez une dinde de 12 semaines. **C** : Cœur ; PF : Péricardite avec dépôt fibrineux **85**

Figure 32 : Foie hypertrophié présentant la lésion de périhépatite **86**

Figure 33 : Carcasse présentant de la périhépatite. **DF** : Dépôt de fibrine **86**

Figure 34 : Rate congestionnée et hypertrophiée chez le poulet de chair de 7 semaines **87**

Figure 35 : Rates hypertrophiées et congestionnée chez dinde de 12 semaines. **87**

Figure 36 : Fréquences des lésions rencontrées lors de l'autopsie. **88**

Figure 37 : Colibacillose respiratoire polysérosité fibrineuse **88**

Figure 38 : Colisepticémie **88**

Figure 39 : Fréquence des entérobactéries isolées dans notre étude. **90**

Figure 40 : Fréquences des sérogroupes des souches *E.coli* isolées. **93**

Figure 41 : Antibiogramme d'une souche *E.coli* après incubation 18 h à 35 C°. **97**

Figure 42 : Pourcentages de résistances des souches *E. coli.* **98**

Figure 43 : Pourcentages de multirésistance des souches *E. coli* isolées. **108**

Figure 44 : Souche *E.coli* productrice de β-lactamase à spectre étendu test de synergie **116**

Figure 45: Souche *E.coli* BLSE absence de synergie enter le disque AUG et les disques de C3G **117**

Figure 46 : Souche *E.coli* productrice de β-lactamase à spectre étendu test du double disque positif **117**

Figure 47: Fréquence des souches *E.coli* productrices de β-lactamase à spectre étendu **118**

Figure 48 : Profil de migration par électrophorèse du gène bla *ctx* M1 sur gel d'agarose **120**

SOMMAIRE

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION…….. 1

CHAPITRE I : BACTERIOLOGIE GENERALE…….. 4

I. Introduction……... 4

II. Historique……. 4

III. Définition…… 4

IV. Caractères bactériologique…….. 4

IV.1. Souches typiques d'*Escherichia coli*…….. 4

IV.1.1. Caractères culturaux……... 5

IV.1.2. Caractères morphologiques……... 5

IV.1.3. Caractères biochimiques……. 5

IV.2. Souches atypiques d'*Escherichia coli*…….. 6

V. Propriétés antigéniques……... 6

V.1. Les antigènes somatiques O…… 6

V.2. Les antigènes flagellaires H…… 6

V.3. Les antigènes capsulaires K…… 7

V.4. Les antigènes de surface F…….. 7

VI. Habitat, pouvoir pathogène naturel et facteurs de pathogénicité……... 7

VI.1 Chez l'homme…… 8

VI.1.1. *E. coli* entéropathogènes (ECEP)…….. 8

VI.1.2. *E. coli* entérotoxinogènes (ECET)……. 8

VI.1.3. *E. coli* entéroinvasifs (ECEI)…… 8

VI.1.4. *E. coli* entérohémorragiques (ECEH)……... 9

VI.1.5. *E. coli* entéroagrégatifs (ECEAg)……. 9

VI.1.6. *E. coli* à adhésion diffuse (ECAD) …… 9

VI.2. Chez les animaux……. 9

VI.2.1. ETEC…….. 10

VI.2.2. STEC…… 10

VI.2.3. EPEC…… 10

VI.2.4. ExPEC …….. 11

CHAPITRE II : **LES INFECTIONS A *ESCHERICHIA Coli*……..** 13

I. Définition ……... 13

II. Historique …… 13

III. Importance économique et sanitaire…….. 13

IV. Classification……. 14

V. Epidémiologie…….. 14

V.1. Facteurs prédisposants…… 14

V.2. Facteurs favorisants……... 15

VI. Facteurs de virulence…….. 15

VII.1. Adhésine…….. 15

VI.1.1. Fimbriae de type 1…… 15

VI.1.2. Fimbriae de type P……... 16

VI.1.3. Autres adhésines……. 16

VI.2. Résistance au sérum et phagocytose (pouvoir bactéricide du complément)….. 16

VI.3. Aérobactine…… 17

VI.4. Toxines……... 17

VI.5. Hémagglutination……... 18

VI.6. Gènes régulateurs de virulence…….. 18

VII. Pathogénie……. 18

VIII. Les infections à *E. coli*…… 19

VIII.1. Les formes localisées …… 19

VIII.1.1. Omphalite / inflammation du sac vitellin……. 19

VIII.1.2. Dermatite nécrotique « cellulite » (processus inflammatoire**) ……** 20

VIII.1.3. Syndrome de la grosse tête……... 21
VIII.1.4. La maladie diarrhéique …… 21
VIII.1.5. Colibacillose vénérienne (vaginite aiguë) …… . 22
VIII.1.6. Salpingite / péritonite (adultes). …… 22
VIII.2. Les formes systémiques de colibacillose « colisepticémie » …… 23
VIII.2.1. Colibacillose respiratoire (colisepticémie d'origine respiratoire) ……. 23
VIII.2.1.1. Sur le plan clinique……. 24
VIII.2.1.2. Sur le plan lésionnel …… 24
VIII.2.1.3. Sur le plan microscopique ……. 24
VIII.2.2. Colisepticémie d'origine intestinale …… 25
VIII.2.2.1. Sur le plan clinique …….. 25
VIII.2.2.2. Sur le plan lésionnel …….. 25
VIII.2.3. Colisepticémie Néonatale ……... 25
VIII.2.4. Septicémie aiguë des pondeuses……. 26
VIII.2.5. Septicémie des canards ……. 26
VIII.3. Les Séquelles de la colisepticémie ou « colibacillose chronique »……. 26
VIII.3.1. Méningite colibacillaire ……... 27
VIII.3.2. Panophtalmie…… 27
VIII.3.3. Osteoarthrites et synovites …….. 27
VIII.3.4. Complexe ostéomyélite de la dinde (COD)…….. 27
VIII.3.5. La coligranulomatose « la maladie de Hjarre » …… 27
IX. Diagnostic …… 28
IX.1. Clinique …… 28
IX.2. Diagnostic différentiel …….. 28
X. Traitement ……. 29
XI. Prophylaxie…….. 29
XI.1. Sanitaire …… 29

XI.2. Médicale…….. 30

CHAPITRE III : LES ANTIBIOTIQUES ET LES ANTIBIORESISTANCES…….. 31

Sous chapitre I : Les antibiotiques et leurs mode d'action……... 31

I. Définition …… 31

II. Historique…… 31

III. Caractéristiques …… 31

III.1. Toxicité sélective …… 31

III.2. Spectre d'activité …….. 32

III.3. Activité antibactérienne ……. 32

III.3.1. La bactériostase (effet bactériostatique)……. 32

III.3.2. La bactéricide (effet bactéricide) ……. 32

IV. Classification…… 32

V. Mode d'action des principales familles d'antibiotiques …….. 32

V.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane (paroi)……. 33

V.1.1. β-lactamines……... 34

V.1.2. Glycopeptides……. 34

V.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique…….. 34

V.2.1. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome……. 35

V.2.1.1. Aminosides……. 35

V.2.1.2. Tétracyclines …… 35

V.2.2. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome…… 36

V.2.2.1. Chloramphénicol……. 36

V.2.2.2. Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)…….. 36

V.2.3. Antibiotique inhibant le facteur d'élongation G…… 36

V.3. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques……. 37

V.3.1. Sulfamides et triméthoprime……... 37

V.3.2. Quinolones…….. 37

V.3.3. Nitrofuranes et Nitro-imidazoles……... 38

V.4. Antibiotiques agissant sur les membranes…….. 38

V.4.1 Les Polymyxines……... 38

SOUS CHAPITRE 2 : L'ANTIBIORESISTANCE……. 39

I. Définition …… 39

II. Historique…… 39

III. Les différents types de résistance …….. 39

III.1. La résistance naturelle …….. 39

III.2. La résistance acquise …….. 39

IV. Biochimie de la résistance ……. 40

IV.1. Résistance croisée …… 40

IV.2. Co-résistance ……. 40

V. Mécanismes biochimique de la résistance aux antibiotiques…… 40

V.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique ……. 40

V.1.1. β- lactamases……. 40

V.1.1.1. Introduction et historique ……. 41

V.1.1.2. Définition…….. 41

V.1.1.3. Classification……. 42

V.1.1.4. Les différents types de BLSE……. 44

a- Les anciennes BLSE……. 44

a-1. Blse de type TEM (TEMONEIRA nom du patient) 44

a-2. Blse Type SHV (SULFHYDRYL Variable)……. 44

b- Les nouvelles Blse …….... 44

b-1. Blse type CTX-M (CEFOTAXIMASE –Munich) 44

b-2. BLSE de type PER (*Pseudomonas* Extended Resistance) 45

b-3. BLSE de type VEB (Vietnam Extended-spectrum Beta-lactamase) 45

b-4. BLSE de type GES (Guyana Extended-Spec trum Beta-lactamase) 45

c- Autres BLSE de classe A……. 46

d. BLSE de type OXA (Oxacillinase)……... 46

V.1.2. Enzymes inactivant les aminosides, le chloramphénicol et les macrolides 47

V.2. Modification de la cible……. 48

V.2.1. Modification des PLP …… 48

V.2.2. Modifications du précurseur du peptidoglycane……... 48

V.2.3. Modifications du ribosome…… 48

V.2.4. Modifications des topoisomérases…….. 48

V.2.5. Modifications de l'ARN-polymérase……. 49

V.2.6. Modifications des enzymes impliquées dans la synthèse des folates … 49

V.2.7. Modifications du facteur d'élongation G ……... 49

V.3. Diminution de la perméabilité …….. 49

V.4. Excrétion de l'antibiotique par efflux …… 49

VI. Mécanisme génétique de la résistance…… 50

VII. Conséquence de la résistance aux antibiotiques ……... 50

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

I. Objectifs…… 52

II. Lieu et période de l'étude…… 52

III. Matériel et méthodes…….. 54

III.1. Matériel……..... 54

III.1.1. Echantillonnage et prélèvement……... 54

III.1.2. Milieux de culture…….. 54

III.1.3. Produits de laboratoire…….. 55

III.2. Méthodes…….. 56

III.2.1. Conduite expérimentale……... 56

III.2.2. Autopsie…… 57

III.2.3. Bactériologie……. 58

III.2.3.1. Isolement des *Escherichia coli*…… 58

III.2.3.1.1. Enrichissement……. 58

III.2.3.1.2. Ensemencement……... 58

III.2.3.2. Identification des *Escherichia coli*…….. 59

III.2.3.2.1. Identification morphologique…….. 59

a) Sur le plan macroscopique……. 59

b) Sur le plan microscopique……. 59

III.2.3.2.2. Identification biochimique…….. 60

III.2.3.2.2.1. Catalase…….. 60

III.2.3.2.2.2. Oxydase…… 61

III.2.3.2.2.3. Test des 3 sucres (TSI)…….. 61

III.2.3.2.2.4. Test de l'uréase…….. 62

III.2.3.2.2.5. Test de l'indole…….. 63

III.2.3.2.3. Identification biochimique par API 20 E…… 64

a) Principe……... 64

1) Test de la β-galactosidase (ONPG)……... 64

2) Test de lysine décarboxylase (LDC), ornithine décarboxylase (ODC) et de l'arginine dihydrolase (ADH)……. 65

3) Test du citrate (CIT)…….. 65

4) Test de la production d'hydrogène sulfuré (H_2S)…….. 66

5) Test de l'urée (URE)…….. 66

6) Test de la Tryptophane désaminase (TDA)……... 66

7) Test de l'indole (IND)…… 66

8) Test de Voges-Proskauer (VP)…….. 67

9) Test de diffusion du pigment noir (GEL)…….. 67

b. Mode opératoire…… 68

b-1. Préparation de la galerie……. 68

b-2. Préparation de l'inoculum…….. 68

b-3. Inoculation de la galerie……. 69

c. Lecture de la galerie……... 69

d. Interprétation de la galerie……. 70

III.2.4. Tests de caractérisation sérologique des bactéries ou la sérotypie par la méthode d'agglutination rapide sur lame…… 70
III.2.4.1. Principe ……. 70
III.2.4.2. Composition ……... 70
III.2.4.3. Equipement requis …… 70
III.2.4.4. Préparation des souches …… 71
III.2.4.5. Mode opératoire…….. 72
III.2.4.5.1. Réalisation des témoins ……... 72
III.2.4.5.2. Test …….. 73
III.2.4.5.3. Lecture et Interprétation des résultats …. 73
III.2.4.5.4. Réactions croisées …… 73
III.2.5 Antibiogramme……... 73
III.2.5.1. Principe……. 74
III.2.5.2. Technique…..……. 75
A- Inoculum…… 75
B- Ensemencement……. 76
C- Application des disques d'antibiotiques……... 76
D- Incubation…….. 77
III.2.5.3. Lecture …… 77
III.2.6. Recherche de la β-lactamase à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries …… 77
III.2.6.1. Méthode de détection de la BLSE 77
III.2.6.1.1. Test de synergie 78
III.2.6.1.2. Test de confirmation du double disque 79
III.2.7. Caractérisation des souches *E.coli* β-lactamases par PCR (Polymerase Chain Reaction) …… 80
III.2.7.1. Principe……. 80
III.2.7.2. L'extraction de l'ADN total…….. 81
III.2.7.3. réalisation de la PCR shv, tem, ctx m1, ctx m2, ctx m8, ctx m9 81
III.2.7.4. Électrophorèse sur gel d'agarose……. 83
III.2.7.4.1. Préparation du gel……. 83

III.2.7.4.2. Réalisation de l'électrophorèse……. 83

III.2.8. Analyse statistique …….. 83

RESULTATS ET DISCUSSION

I. Lésions……... 84

I.1. Aérosacculite…….. 84

I.2. Péricardite……... 85

I.3. Perihépatite……. 85

I.4. Congestion de la rate…….. 86

I.5. Fréquences et répartition des lésions rencontrées…….. 87

II. Bactériologie…… 89

II.1. Isolement et identification des *E. col*…….. 89

III. Le sérogroupage des souches *E.coli* 91

IV. Antibiogramme 96

IV.1. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques…… 100

IV.1.1. Les β-lactamines…….. 100

IV.1.2. Les tétracyclines……. 101

IV.1.3. Les quinolones……. 102

IV.1.4. Les sulfamides……. 103

IV.1.5. Les aminosides……. 104

IV.1.6. Les polypeptides…….. 106

IV.7. Les phénicolés……. 106

IV.8. Les furanes …….. 107

IV.2. Les multirésistances……. 107

IV.2.1. Résistance vis-à-vis de deux antibiotiques et plus……. 109

IV.2.2. Résistance vis-à-vis de trois antibiotiques et plus……. 110

IV.2.3. Résistance vis-à-vis de quatre antibiotiques et plus…….. 110

IV.2.4. Résistance vis-à-vis de cinq antibiotiques et plus…….. 110

IV.2.5. Résistance vis-à-vis de six antibiotiques et plus……. 111

IV. 2.6.. Résistance vis-à-vis de sept antibiotiques et plus……. 111

IV.2.8. Résistance vis-à-vis de huit antibiotiques et plus……. 111

IV.3. Les antibiotypes (les profils de résistances, phénotypes)……. 112

V. La recherche phénotypique des souches *E.coli* productrices de betalactamase à spectre étendu……... 116

VI. La recherche de gènes d'antibioresistance par PCR…… 120

***CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS*……...** 124

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

PUBLICATION

Depuis près d'un demi-siècle, la production avicole a vécu des changements profonds. Les progrès en génétique et en nutrition ont favorisé une expansion phénoménale de cette production qui a su répondre à l'augmentation remarquable de la demande pour ces produits (Vaillancourt, 2009).

Selon les estimations de la FAO datées de novembre 2013, la production mondiale de volailles atteindrait 107 millions de tonnes. De ce fait, elle se situe au second rang, derrière la viande de porc (115 millions de tonnes), mais loin devant la viande bovine (68 millions de tonnes). Le développement de la population, le fort pouvoir d'achat et l'urbanisation ont été de puissants moteurs favorisant cette croissance. Cette production constitue le meilleur recours pour répondre à un besoin croissant et pressant de la population en protéines animales (Amghous et Kheffache, 2007).

A l'instar des autres pays du monde, l'Algérie a procédé, dès les années 1970, au développement de la filière avicole, en vue de réduire rapidement le déficit en protéines animales dont, souffrait cruellement le citoyen. Les plans élaborés afin d'atteindre cet objectif ont été axés sur la production intensive des produits finis (poulet de chair et œufs de consommation) dans le but d'arriver à une production locale optimale (poussin chair et ponte d'un jour) (Fenardji, 1990 ; Ferrah, 2000).

A cet égard, la filière avicole algérienne a pu atteindre un palier appréciable en matière de production. Présenté par le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, le bilan de la campagne agricole 2011 fait état d'une production totale dépassant les 2.49 millions de quintaux pour les viandes blanches et 3.597 millions d'unités pour les œufs de consommation. L'Algérie est classée, à cet effet, comme troisième pays arabe producteur de viandes blanches (13,9%) après l'Egypte (16,7%) et l'Arabie Saoudite (23,2%), L'essor que connait la filière s'explique, sans contredit, par les subventions et les primes octroyées par l'Etat. En effet, un sérieux programme de réhabilitation et de promotion a été mis en place et des fonds publics importants ont été mobilisés, en accordant des aides de soutien aux investissements nécessaires à tous les stades de la production avicole.

D'après l'ITELV (2015), l'analyse dynamique des marchés des produits avicoles montre et affirme la spécificité d'une filière instable et fragile. Cette dernière reste cependant, dépendante en majorité du marché international en intrants alimentaires (maïs/soja), en additifs et produits vétérinaires, ainsi qu'en matériaux biologiques (poussins et œufs à couver).

Il s'agit d'une filière lourde qui se heurte à un handicap de taille, résultant de la multitude de ses intervenants à tous les niveaux. Raison pour laquelle, de nombreuses contraintes, tant sur le plan technique qu'économique, entravent son développement et restent difficiles à lever sur le court terme, malgré les efforts indéniablement déployés.

L'intensification de la filière aviaire n'évolue pas sans problèmes. En effet, la plupart des aviculteurs ne sont pas des professionnels et ne maîtrisent pas l'application des règles d'hygiène fondamentales, favorisant ainsi l'émergence de diverses pathologies qui portent atteinte à la qualité du produit et à la rentabilité économique.

Ces entités sont représentées en majeure partie par des maladies virales (maladie de Newcastle, maladie de Gumboro, maladie de Marek, la grippe aviaire), des infections bactériennes (colibacilloses, salmonelloses, pasteurelloses, entérites nécrotiques, campylobactérioses) et parasitaires (coccidioses, histomonose).

La volaille constitue l'un des principaux réservoirs d'entérobactéries et se trouve par conséquent souvent incriminée dans de nombreuses toxi-infections alimentaires collectives (Cardinale *et al*., 2002), faisant de la lutte contre le genre *Salmonella* l'une des préoccupations majeures du monde vétérinaire. Aussi, les infections à *Escherichia coli* sont connues depuis fort longtemps dans les élevages avicoles car elles sont, les plus répandues et les plus importantes en pathologie aviaire.

Elles demeurent à ce jour un sujet d'actualité car l'intensification de la production avicole dans le monde a augmenté leur incidence et les pertes économiques pour l'industrie avicole sont considérables. Elles peuvent entrainer de la mortalité, des retards de croissance, des baisses de performances, des chutes de l'éclosabilité et d'importantes saisies au niveau des abattoirs, ajoutant à cela des frais importants en antibiothérapie (Cloud *et al.*, 1986; Hammoudi et Aggad, 2008).

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

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

santé humaine. Ainsi la consommation mondiale en antibiotiques chez les animaux est de 27000 tonnes dont 20% chez la volaille (5400 tonnes) (Rapport AFSSA-ANMV Sept 2009) (Bousquet-Milou, 2010).

Plusieurs études ont été menées dans différents régions dans le monde: en Iran (Saberfar et *al.*, 2008), au Sénégal (Soumaila Garba, 2012), en France (Schouler et *al.*, 2012), en Espagne (Blanco et *al.*, 1997) et en Algérie (Hammoudi et Aggad, 2008 ; Aggad et *al.*, 2010; Bennamer et *al.*, 2014 et Messai et *al.*, 2013). Elles ont consisté à déterminer la fréquence de résistance des souches d'*E. coli* isolées des volailles à l'encontre de différentes familles d'antibiotiques utilisées en espèce aviaire. Les résultats obtenus sont inquiétants et indiquent l'émergence et la dissémination des souches dites « multi-résistantes » à grande échelle.

Notre étude s'est fixée pour objectifs l'estimation de la prévalence de la colibacillose aviaire dans l'Est et le centre d'Algérie, la détermination des principales formes lésionnelles rencontrées chez les différents sujets atteints, prélevés des abattoirs avicoles de Sétif, Boumerdes et Alger, ainsi que la recherche des souches d'*E. coli* potentiellement productrices de bétalactamases à spectre étendu. L'attention a été aussi portée sur la caractérisation phénotypique (antibiorésistance et sérogroupage) et génotypique (recherche des gènes codant pour la production des béta lactamases) des différents isolats.

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

CHAPITRE I : BACTERIOLOGIE GENERALE

I. Introduction

E. coli est un hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'Homme et des animaux à sang chaud. Son établissement dans le tractus digestif s'effectue durant les premières heures ou journées qui suivent l'accouchement ou l'éclosion. *E. coli* constitue alors tout au long de la vie de l'hôte l'espèce bactérienne dominante de la flore aérobie intestinale. Elle est sans doute l'organisme vivant le plus étudié à ce jour La profusion de publications scientifiques qui la mentionnent en témoigne (Joly et Reynaud, 2003).

II. Historique

C'est en 1885 que la bactérie *Escherichia coli* est décrite pour la première fois dans des selles de nourrissons, par l'Allemand Theodor Escherich sous le nom de *Bacterieum coli commune* (Escherich, 1885). Toutefois, son nom actuel lui est donné en 1919 par Castellani et Chambers (Grimont, 1987). Le genre *Escherichia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, qui doit son nom à leur isolement fréquent du tube digestif et/ou des fèces des mammifères (Greatorex et Thorne, 1994).

Dans les années 1950, de nombreuses souches d'*E. coli* sont incriminées en tant qu'agent étiologique de diarrhées infantiles. On sait maintenant que certaines souches "spécialisées" d'*E. coli* sont associées à des pathologies très diverses tant chez l'Homme que chez l'animal.

III. Définition

Escherichia coli est l'espèce type du genre *Escherichia*. Appelée communément colibacille, elle appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* et à la classe des *γ-Proteobacteria* (phylum des *Proteobacteria*) (Brenner *et al.*, 2005).

IV. Caractères bactériologiques

IV.1. Souches typiques d'*Escherichia coli*

E. coli possède les caractères classiques des *Enterobacteriaceae* (Richard, 1989).

IV.1.1. Caractères culturaux

E. coli est aérobie facultative et thermophile, avec une température de croissance, comprise entre 15 et 45°C, avec un optimum à 37°C. Sa culture admet une grande tolérance de variation de pH, de 4,4 à 9, avec un pH optimum de 7,5 (Tap, 2004).

IV.1.2. Caractères morphologiques

C'est un bacille à gram négatif, non sporulé, parfois capsulé, assez grand (1-1,5 × 2-6 µm).

La plupart des souches se multiplient rapidement sur les milieux gélosés ordinaires ou sélectifs, elles donnent en 18 à 24 h des petites colonies de 2 mm de diamètre qui ont un aspect caractéristique mais non spécifique : elles sont rondes, plates en "dos de scarabée" et à bords réguliers, convexes, lisses, et incolores (Richard, 1989).

Les colonies sont de couleur rose claire et entourées d'un halo de précipita de sel biliaire sur gélose Mac Conkey. Elles sont noirâtres, avec un reflet vert métallique sur la gélose EMB (eosin-methylene blue). La plupart des souches sont mobiles, à mobilité péritriche.

IV.1.3. Caractères biochimiques

Les principaux caractères biochimiques permettent de distinguer le genre *Escherichia* des genres voisins (tableau 1), et l'espèce *E. coli* des espèces voisines (voir annexe I).

Tableau 1 : Caractères biochimiques différentiels du genre *Escherichia* et genres d'*Enterobacteriaceae* proches (Farmer *et al.*, 1985)

	Escherichia	***Shigella***	***Citrobacter***	***Salmonella****	***Enterobacter***	***Serratia***	***Hafnia***	***Klebsiella***	***Buttiauxella***	***Cedecea***	***Klyuvera***	***Moellerella***
β-galactosidase	+**	d	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+
Uréase	–	–	d	–	–	–	–	d	–	–	–	–
Mobilité a 36°C	d	–	+	+	+	+	d	–	+	+	+	–
Gaz en glucose	+	–	+	+	+	d	d	d	+	+	+	–
Indole	+	d	d	–	–	–	–	d	–	–	+	–
LDC	d	–	–	+	d	+	+	+	–	–	d	–
Citrate de Simmons	–	–	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
VP	–	–	–	–	+	d	d	d	–	d	–	–
ADH	–	–	d	+	d	–	–	–	–	+	–	–
ODC	d	d	+	+	d	d	+	–	+	d	+	–

**Salmonella* y compris SG III (Arizona).
Résultats obtenus après 18-24 h d'incubation à 36-37°C.
** Symboles :
+ = positif pour 90% à 100% des souches ; – = négatif pour 90% à 100% des souches ;
d = variable selon les souches.
LDC : lysine décarboxylase, VP : réaction de Voges-Proskauer, ADH : arginine dihydrolase. ODC : ornithine décarboxylase.

IV.2. Souches atypiques d'*Escherichia coli*

Il n'est pas exceptionnel d'isoler des souches *E. coli* ne présentant pas tous les caractères habituels mentionnés ci-dessus (Richard, 1989).

V. Propriétés antigéniques

Les composants antigéniques *d'E. coli* sont variés et appartiennent à quatre types de structures (Orskov et Genus, 1986). Leur identification permet de définir le sérotype, c'est-à-dire l'association des spécificités des antigènes O, H et si possible K.

V.1. Les antigènes somatiques O

Correspondent aux lipopolysaccharides présents sur la paroi bactérienne des souches à Gram négatif, de structures complexes et définissant le sérogroupe (Gherbu, 1988 ; Grimont, 1987 ; Gyles, 1994). Au moins 181 spécificités antigéniques O sont connues.

L'identification de l'antigène O est habituelle pour décrire une souche de colibacille car elle conditionne le pouvoir pathogène des souches, ainsi que l'immunité conférée, mais il existe de nombreuses réactions croisées, notamment avec les LPS d'autres bactéries à Gram négatif (Levine, 1987 ; Su et Brant, 1995).

V.2. Les antigènes flagellaires H

Correspondent aux protéines flagellaires, constituées de flagelline. Cette protéine est présente dans le flagelle qui permet le déplacement des bactéries mobiles (Gherbu, 1988 ; Grimont, 1987 ; Gyles, 1994 ; Orskov et Orskov, 1992).

Leur identification est souvent délicate en raison de leur fragilité et de la faible ou non-mobilité de la plupart des souches lors de leur isolement, et sont classées alors NM ou H– (Gherbu, 1988 ; Grimont, 1987 ; Orskov et Orskov, 1992). 56 antigènes H sont identifiés en

utilisant des méthodes d'agglutination en milieu liquide ou d'immobilisation en gélose mobilité (Gherbu, 1988 ; Orskov et Orskov, 1992).

Une technique de sérotypage moléculaire a donc été également développée pour déterminer l'antigène H (Machado *et al.*, 1998 ; Zhang *et al.*, 2000).

V.3. Les antigènes capsulaires K

Correspondent à la capsule, sont de nature polysaccharidique et sont inégalement répartis dans l'espèce. Soit ils constituent une enveloppe d'importance variable, soit une véritable capsule (Gherbu, 1988 ; Grimont, 1987 ; Gyles, 1994).

Plus de 80 spécificités K sont reconnues, dont la spécificité K1 (*E. coli* K1 responsable de méningites néonatales) (Levine, 1984) et la spécificité K 12 (souche K12 très utilisée en génétique bactérienne) sont les plus connues.

V.4. Les antigènes de surface F

Sont présents chez les souches ayant des propriétés d'adhésion. De nature protéique, ils sont souvent associés aux fimbriae ou pili et sont donc de structure fibrillaire, ce qui explique la désignation F souvent employée.

Ces antigènes protéiques sont codés soit par le chromosome et organisés sous forme d'opéron (antigène F1, antigène F7…) soit par un plasmide (F2, F3 …). Les facteurs environnementaux de la bactérie tels que le pH et l'osmolarité régulent fortement leur expression (Darfeuille-Michaud *et al.*, 1990 ; Schwan *et al.*, 2002).

VI. Habitat, pouvoir pathogène naturel et facteurs de pathogénicité

Escherichia coli est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud.

Chez l'homme il représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie (10^6 à 10^8 bactéries par gramme chez l'adulte). A ce titre *E. coli* constitue un bon indicateur d'une contamination fécale, sa présence dans l'eau, les aliments ou le sol étant anormale.

VI.1 Chez l'homme

Les souches *E. coli* responsables d'infections intestinales sont actuellement classées dans six pathovars définis sur la base des facteurs de pathogénicité et des signes cliniques engendrés (Nataro et Kaper, 1998 ; Kaper *et al.*, 2004).

VI.1.1. *E. coli* entéropathogènes (ECEP)

Ils sont appelés *E. coli* de gastroentérite infantile (GEI). Des études réalisées au Brésil, au Mexique, en Afrique du Sud et au Bangladesh montrent que 30 à 40% des diarrhées infantiles sont dues aux EPEC ; ceux-ci seraient responsables de plusieurs centaines de milliers de décès chez les enfants chaque année (Chen et Frankel, 2005).

Les infections sont caractérisées par l'émission de selles aqueuses, avec du mucus, mais ne contenant ni leucocytes, ni hématies. Elles s'accompagnent fréquemment de fièvre, malaise et vomissement, surtout chez l'enfant dans la tranche d'âge de 6 à 18 mois (Livrelli *et al.*, 2007).

VI.1.2. *E. coli* entérotoxinogènes (ECET)

Ils sont responsables de la "diarrhée du voyageur" ou "*turista"* (Kean, 1986). Ils sont, dans les pays en voie de développement, la principale cause des diarrhées infantiles (Levine, 1987).

En revanche, ils sont rarement incriminés dans les pays riches. L'infection fait suite à l'ingestion de nourriture ou d'eau contaminées, et se manifeste par un syndrome cholériforme associant une diarrhée liquidienne aiguë, des crampes abdominales et des nausées (Livrelli *et al.*, 2007).

VI.1.3. *E. coli* entéroinvasifs (ECEI)

Ils peuvent être responsables de diarrhées aqueuses, mais aussi du syndrome dysentérique caractérisé par de la fièvre et par une diarrhée sanglante et purulente. Sur le plan taxonomique, biochimique, génétique et du pouvoir pathogène, les EIEC sont très proches de *Shigella* (Escobar-Paramo *et al.*, 2003).

Chez les EIEC, tous les gènes de virulence nécessaires à l'invasion sont localisés sur un plasmide de virulence d'environ 230 Kb (Menard *et al.*, 1996).

D'autres facteurs de virulence sont décrits, tels que la sérine protéase SepA, un système d'acquisition du fer de type aérobactine, et d'autres protéases secrétées (Kaper *et al.*, 2004).

VI.1.4. *E. coli* entérohémorragiques (ECEH)

Ils sont responsables de diarrhées aqueuses, de colites hémorragiques, pouvant se compliquer d'un syndrome hémolytique et urémique (SHU). La présence de toxines Shiga-like, également appelées Vérotoxines (VT) est responsable des troubles cliniques (Livrelli *et al.*, 2007).

Le réservoir principal des EHEC est le tube digestif des ruminants, en particulier des bovins (Pradel *et al.*, 2000). Entre 1982 et 2002, plus de 350 épidémies documentées impliquant $O_{157}H_7$ sont rapportées aux États-Unis ; certaines ont touché plusieurs centaines, voire plusieurs milliers de personnes (Rangel *et al.*, 2005).

VI.1.5. *E. coli* entéroagrégatifs (ECEAg)

Les ECEAg sont responsables d'infections digestives analogues à celles dues aux EPEC (diarrhée aiguë) mais plus persistantes (Bhan *et al.*, 1989 ; Baudry *et al.*, 1990).

Ils sévissent dans les pays en voie de développement, mais également dans les pays occidentaux, en particulier chez les patients atteints de SIDA (Huang *et al.*, 2004).

VI.1.6. *E. coli* à adhésion diffuse (ECAD)

D'abord classés parmi les EPEC, ces *E. coli* sont individualisés en raison de leur phénotype d'adhésion particulier (Giron *et al.*, 1991).

Il semblerait que seules certaines tranches d'âges parmi la population pédiatrique (48-60 mois) développent des diarrhées dues à ces souches (Levine *et al.*, 1993).

VI.2. Chez les animaux

E. coli est responsable, chez l'animal, du même potentiel infectieux que chez l'Homme, causant une grande variété de maladies intestinales et extra-intestinales (figure 1). Les infections les plus étudiées sont celles des animaux domestiques mais les animaux sauvages sont également sensibles à *E. coli* (Bettelheim, 1992 ; Gyles et Fairbrother, 2010).

VI.2.1. ETEC

Les *E. coli* du pathovar ETEC sont la cause la plus commune de diarrhée chez les animaux fermiers (Fairbrother *et al.*, 2002 ; Nagy et Fekete, 2005).

Ils produisent plusieurs types d'entérotoxines et d'adhésines qui permettent l'attachement à l'épithélium intestinal et favorisent la colonisation de l'hôte (Gyles et Fairbrother, 2010).

Chez les ruminants, les ETEC sont responsables d'épidémies de diarrhée dans les élevages de bovins et ovins, affectant principalement les animaux nouveau-nés (Nagy et Fekete, 1999).

VI.2.2. STEC

Dans les maladies causées par STEC, le facteur de virulence critique est Stx. La maladie de l'œdème, chez le porc, est la seule où le rôle de Stx est bien établi (Gyles et Fairbrother, 2010).

Un haut pourcentage du bétail et des moutons est porteur de STEC sans montrer les signes de maladie (Naylor *et al.*, 2005 ; Gyles, 2007). Cependant, ces germes sont responsables de diarrhées dysentériformes chez les veaux et les agneaux (Chanter *et al.*, 1986).

- **Chez le chien :** Sont présents dans les fèces des chiens diarrhéiques et sains (Hammermueller *et al.* 1995 ; Beutin, 1999). Ils provoquent occasionnellement le SHU chez les chiots de différentes races, avec prodrome de diarrhée hémorragique suivie de thrombopénie et micro-angiopathie et d'anémie hémolytique et insuffisance rénale aiguë (Holloway *et al.*, 1993 ; Hertzke *et al.*, 1995).

- **Chez le porc :** Le sérotype le plus souvent isolé lors de la maladie de l'œdème est $O_{13}K_{81}H_{14}$. C'est une toxémie due à STx2e se traduisant par des œdèmes sévères dans des endroits spécifiques. L'injection de STx2e à faible dose (3 nanogrammes/kg de poids vif) provoque des signes, symptômes et lésions de la maladie de l'œdème (Macleod *et al.*, 1991).

VI.2.3. EPEC

Ils sont très pathogènes et causent des diarrhées chez plusieurs espèces animales, les plus importantes étant le lapin, le porc et le chien, et induisent des lésions type attachement-effacement (AE) (Gyles et Fairbrother, 2010).

- Chez le porc : Les EPEC sont associés à la diarrhée de post-sevrage (Zhu *et al.* 1994, 1995), et appartiennent souvent aux sérogroupes O_{45} et O_{103} au Canada (Gyles et Fairbrother, 2010). En Hongrie, 40% des isolats intestinaux appartiennent au sérotype $O_{123}H_{11}$ (Malik *et al.*, 2006).

- Chez le chien : Sont les plus communément associés aux diarrhées chez le chien (BEUTIN, 1999 ; Goffaux *et al.*, 2000). Ils sont aussi isolés chez le chat (Goffaux *et al.*, 2000). Ils appartiennent à des sérogroupes hétérogène, O_{45}, $O_{49}H_{10}$, O_{115}, O_{118} (Beutin, 1999).

- Chez le lapin : Le lapin est particulièrement sensible. Les EPEC sont les principaux agents infectieux dans les diarrhées du lapin, causant 25 à 40% de perte (Gyles et Fairbrother, 2010). Les sérotypes O_2H_7, $O_{15}H$- et $O_{103}H_2$ sont présents de manière significative dans les maladies chez les lapins qui allaitent et les lapins sevrés (Milon *et al.*, 1999).

VI.2.4. ExPEC

Ce groupe est incriminé dans de grandes variétés d'infections dues à *E. coli*, incluant les septicémies, infections du tractus génital, du tractus urinaire et des glandes mammaires (Gyles et Fairbrother, 2010).

- Chez le porc : La septicémie à *E. coli* atteint les porcs nouveau-nés et moins fréquemment les porcelets allaitants (Fairbrother et Ngeleka, 1994). Caractérisée par une infection généralisée aiguë, suivie souvent par la mort dans les 3 à 8 heures (Gyles et Fairbrother, 2010).

- Chez le veau : Septicémies des veaux dans les premiers jours de vie et à 2-3 semaines chez les agneaux (Gay et Besser, 1994 ; Fecteau *et al.*, 2009).

- Chez le poulet : Se traduit part une dépression et de la fièvre chez les oiseaux de 4 à 9 semaines et peut provoquer des pertes économiques très importantes, jusqu'a 20% de mortalité (Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).

Tableau 2 : Pathovars les plus importants et facteurs de virulence d'*E. coli* causant la maladie chez l'espèce aviaire (Gyles et Fairbrother, 2010)

Maladie	Pathovar	Facteur de virulence	Serogroupe O
Colisepticemie	APEC	F1 (type 1), F11 (fimbriae de la famille P), Sit, Stg, K1, aérobactine, salmocheline, Tsh,	1, 2, 8, 15, 18, 35, 78, 88, 109,115
Cellulite	APEC	Fimbriae type 1 et P, K1	2, 25, 71,78

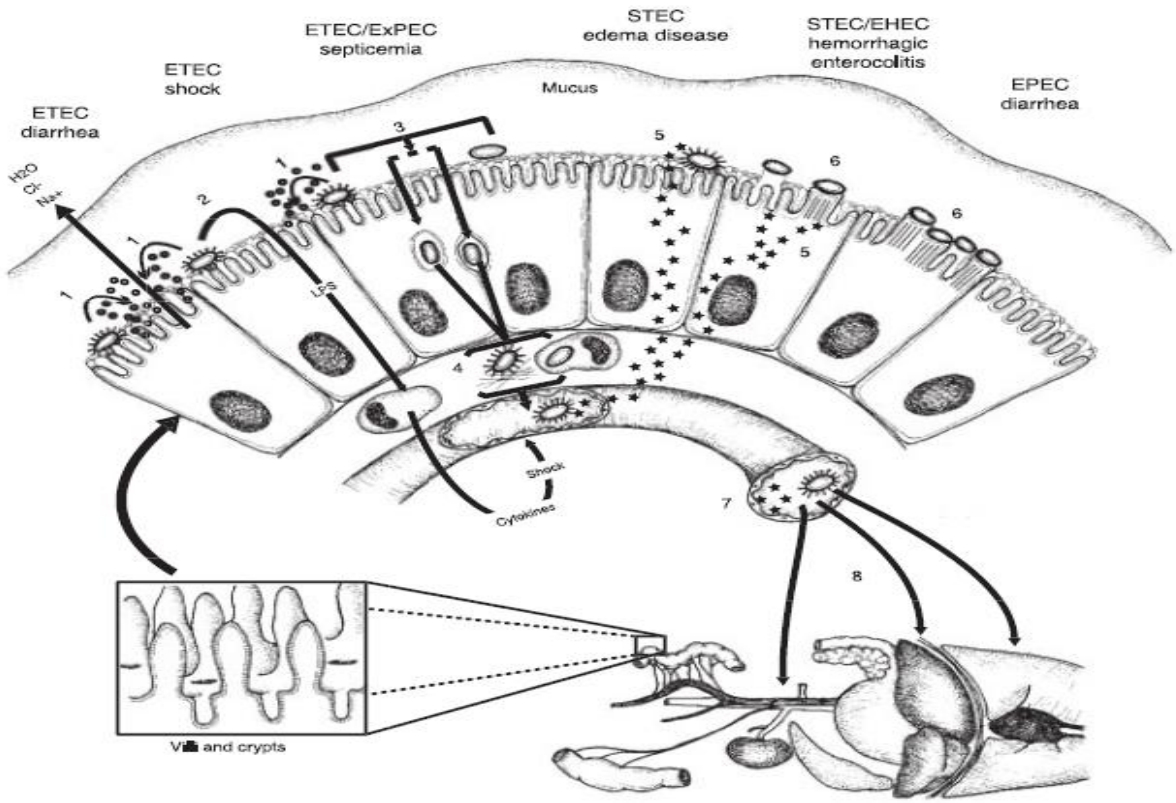


Figure 1 : Représentation schématique des étapes impliquées dans la pathogénie d'infection due à différent pathovars d'*E. coli* chez les animaux (Lachance et Nadeau, 2004)

1. Adhésion ETEC à l'épithélium de l'intestin grêle et production d'entérotoxine qui stimule la sécrétion d'eau et d'électrolytes dans la lumière intestinale.
2. LPS libéré par ETEC peut aussi passer à travers l'épithélium et stimule les macrophages qui produisent les médiateurs qui agissent sur l'endothélium vasculaire pour provoquer le choc.
3. ETEC et ExPEC peuvent passer à travers ou entre les cellules épithéliales pour atteindre la circulation sanguine.
4. Ces bactéries peuvent adhérer à la matrice protéique extracellulaire et peuvent aussi résister à l'effet bactéricide du complément et des phagocytes.
5. STEC (F18 fibriaire, maladie de l'œdème chez le porc et EHEC chez le chien) produisent la cytotoxine Stx qui passe à travers les cellules épithéliales et rejoint la circulation sanguine.
6. STEC (EHEC chez le bétail et le chien) et EPEC s'attachent intimement aux cellules épithéliales et induisent la polymérisation de l'actine et forme le piédestal.
7. Action sur l'endothélium vasculaire, site cible.
8. Dissémination aux organes internes.

CHAPITRE II : LES INFECTIONS A *ESCHERICHIA COLI*

I. Définition

La colibacillose fait référence à n'importe quelle infection localisée ou généralisée, causée entièrement ou partiellement par les souches APEC (Avian Pathogenic *Escherichia coli*), (Barnes *et al.*, 2003). L'agent étiologique de la colibacillose est la bactérie *Escherichia coli (E. coli)*, qui fait partie des pathovars APEC (Avian Pathogenic *Escherichia coli*), proches génétiquement des ExPEC (Extra-intestinal Pathogenic *Escherichia coli*). Il s'agit d'une bactérie de 2,5 µ de long et 0,6 µ de large, Gram–, non sporulée, de la famille des *Enterobacteriaceae*. Cette bactérie est le plus souvent mobile (Villate, 2001 ; Gyles et Fairbrother, 2004 ; Guérin *et al.*, 2011).

II. Historique

La mortalité des volailles et l'isolement d'une bactérie depuis le cœur, le foie et la rate, correspondant à *E. coli*, est rapporté pour la première fois par Lignières en 1894.

Entre 1894 et 1922, la maladie est décrite chez le pigeon, le cygne, la dinde et la caille.

La première description de la colisepticémies est publiée en 1907 : mortalité importante de poulets présentant des lésions semblables à celles engendrées par le choléra. En 1923, une infection est décrite par Palmer (1923), où des oiseaux somnolents, asthéniques et paralytiques, présentant une entérite infectieuse, où *E. coli* est isolé.

En 1938, une maladie qui ressemble à la pullorose provoque des pertes de 15-40% chez des poussins âgés de moins de 10 jours, provenant du même couvoir. Les poussins présentent une péricardite, une périhépatite et des taches blanchâtres sur le foie. *E. coli* est isolé des tissus.

Entre 1938 et 1965, la coligranulomatose (maladie de Hjärre) et l'implication *d'E. coli* dans une grande variété de lésions, incluant l'atteinte des sacs aériens, des arthrites, des abcès plantaires, omphalite, panophtalmie, péritonite et salpingite, sont identifiées et décrites.

III. Importance économique et sanitaire

Dans le monde, la colibacillose est considérée comme la cause primaire des pertes économiques dans la production avicole (Zanella *et al.*, 2000).

En Algérie, la colibacillose aviaire est responsable de grandes pertes économiques dans les élevages avicoles, se traduisant par la baisse de performance, perte de poids, retard d'entrée en ponte, mortalité. A cela viennent s'ajouter les frais en antibiothérapie qu'engendrent les diverses manifestations de cette maladie (Hammoudi et Aggad, 2008).

Le poulet est susceptible d'être colonisé par *E. coli* $O_{157}H_7$ produisant la shigatoxine qui provoque l'entérite hémorragique chez l'homme. Des infections naturelles sont signalés chez le poulet et la dinde dans différentes zones géographiques (Guo *et al.*, 1998 ; Heuvelink *et al.*, 1999 ; Pilipcinec *et al.*, 1999).

IV. Classification

Les premières études menées sur les colibacilles aviaires par Sojka et Carnaghan (1961) montrent qu'il existe une variation selon les régions géographiques mais les sérogroupes les plus fréquemment associés à la colibacillose sont O_1, O_2, O_{35} et O_{78}. Plus récemment, des études menées sur 112 souches d'*E. coli* isolées de cas de colibacillose au Canada par Dozois *et al.* (1992) montrent que 16 sérogroupes sont représentés, parmi lesquels les sérogroupes O_{78} (52%) et O_1 (6%) sont les plus fréquemment rencontrés et les plus pathogènes.

Les dernières études réalisées montrent que les plus présents et les plus pathogènes sont les sérotypes O_1, O_2 et O_{78}, représentant 15 à 61% des souches isolées, bien que d'autres soient aussi présents. Les autres sérotypes représentés de manière significative sont O_8, O_{15}, O_{18}, O_{35}, O_{88}, O_{109}, O_{115} et O_{116} (Bree *et al.*, 1989 ; Dho-Moulin *et al.*, 1990 ; Babai *et al.*, 1997 ; Blanco *et al.*, 1998 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999 ; Guérin *et al.*, 2011).

V. Epidémiologie

Le tractus digestif de l'animal est le plus important réservoir des *E. coli* aviaires.. Environ 10 à 15% appartiennent à des sérotypes potentiellement pathogènes (APEC). Les plus grandes concentrations sont retrouvées au niveau du tractus digestif postérieur des animaux de moins de 3 semaines, (Gross, 1994 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).

V.1. Facteurs prédisposants

Espèce : Toutes les espèces aviaires sont sensibles à *E. coli*. C'est une infection extrêmement fréquente et de répartition mondiale (Guérin *et al.*, 2012).

Age : La forme la plus commune de la colibacillose survient entre 3 et 12 semaines, affectant les jeunes oiseaux à cause de leur système immunitaire immature et l'absence d'effet barrière de leur flore intestinale incomplète. Certaines souches pathogènes peuvent aussi infecter l'oiseau non affaibli (Villate, 2001 ; Moon *et al.*, 2006 ; Hammoudi et Aggad, 2008).

Sexe : Il semblerait que les mâles soient plus susceptibles à la maladie que les femelles. Selon une expérimentation faite sur des dindons âgés de 5 semaines, et après immunosuppression par deux doses de dexaméthasone et l'inoculation à travers les sacs aériens de 100 UFC d'*E. coli*, la mortalité, le score lésionnel et le taux d'*E. coli* dans le sang sont significativement plus élevés chez les mâles que chez les femelles (Huff *et al.*, 1999).

V.2. Facteurs favorisants

Agents biologiques : Différents agents biologiques sont susceptibles de favoriser les infections de la volaille par les souches APEC : les virus de la bronchite infectieuse, de la maladie de Newcastle ou de Gumboro, *Mycoplasma gallisepticum* (Stordeur et Mainil, 2002).

Agents non biologiques : Comme des teneurs trop élevées en ammoniac ou en poussière dans les élevages (Stordeur et Mainil, 2002).

VI. Facteurs de virulence

Il est de plus en plus admis que la possession de certains gènes chromosomiques ou plasmidiques codant les facteurs de virulence confère aux souches APEC une pathogénicité propre due à leur capacité de survie dans l'hôte (Stordeur et Mainil, 2002 ; Stordeur *et al.*, 2003 ; Robineau et Moalic, 2010 ; Guérin *et al.*, 2011).

VI.1. Adhésine

Le pouvoir pathogène des colibacilles est lié à la capacité d'adhérence aux muqueuses respiratoires par des pili codés par un plasmide (Villate, 2001 ; Robineau et Moalic, 2010).

VI.1.1. Fimbriae de type 1

Les fimbriae de type 1 sont principalement exprimés par les bactéries qui colonisent la trachée, les poumons et les sacs aériens, mais pas par celles qui colonisent les tissus plus profonds ou le sang car elles sont rapidement tuées par les macrophages (Dozois *et al.*, 1994 ;

Pourbakhsh *et al*., 1997a). Plusieurs variants des fimbriae de type 1 existent chez les APEC et semblent associés aux sérotypes des souches (Dozois *et al.,* 1995).

VI.1.2. Fimbriae de type P

La présence des fimbriae de type P est significativement plus fréquente chez les souches isolées de poulets septicémiques que chez des souches isolées de poulets sains (Dozois *et al.,* 1992). Les fimbriae P sont exprimés par les bactéries qui colonisent les sacs aériens, poumons et organes internes mais ne sont pas exprimés par celles qui colonisent la trachée, suggérant que cette adhésine pourrait jouer un rôle plus tardif dans le processus infectieux (Dozois *et al.,* 1995 ; Pourbakhsh *et al.,* 1997a).

VI.1.3. Autres adhésines

Des études sur une collection de 1.600 souches d'*E. coli* aviaires isolées d'animaux morts de colibacillose, par hybridation sur colonies (projet Européen Fair 6-CT98-4093), mettent en évidence que des adhésines F17 et Afa-8 présentes chez d'autres espèces animales comme le bovin ou le mouton (Pohl et Mainil, 1995 ; Martin *et al.,* 1997 ; Mainil *et al.,* 1997 ; Le Bouguenec *et al.,* 1999 ; Lalioui *et al.,* 1999 ; Gérardin *et al.,* 2000 ; Mainil *et al.,* 2000), et jusqu'alors non décrites chez la volaille, sont également présentes chez celle-ci (Stordeur *et al.,* 2002).

VI.2. Résistance au sérum et à la phagocytose (pouvoir bactéricide du complément)

La résistance au sérum et à la phagocytose est bien élucidée pour jouer un rôle important dans la virulence et le développement de la septicémie (Vidotto *et al.,* 1990 ; Nolan *et al.,* 1992a ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).

Les gènes traT et Iss codent pour les protéines de la membrane externe, et leur rôle dans la résistance au sérum est confirmée par mutagenèse (Sukupolvi *et al.,* 1987 ; Wooley *et al.,* 1993). Le gène Iss est fréquemment plus présent dans les isolats d'oiseaux atteints de colibacillose que dans les isolats fécaux d'oiseaux sains (Pfaff-McDonough *et al.,* 2000 ; Nolan *et al*. 2003 ; McPeake *et al.,* 2005 ; Rodriguez-Siek *et al.,* 2005). La protéine TraT agit comme un inhibiteur de la phagocytose en entravant la déposition du C3 (Agüero *et al.,* 1984). En plus de TraT et Iss, une protéine de16,2 kDa, connue pour servir de médiateur de la résistance au complément, est identifiée (Nolan *et al.,* 1992b).

Des études récentes ont confirmé le rôle de la capsule K1 et des fimbriae F1 et P aussi bien que les lipopolysaccharides O_1, O_2 et O_{78} dans la résistance aux effets du sérum et la phagocytose (Pourbakhsh *et al.*, 1997a ; Mellata *et al*. 2003a,b).

VI.3. Aérobactine

Ce système, dont l'opéron est situé sur un grand plasmide (80 Kb), fonctionne *in vivo* et son rôle principal serait de permettre aux bactéries de se multiplier dans le sang ou les organes autres que l'intestin (Williams, 1979 ; Vidotto *et al.*, 1991 ; Wooley *et al.*, 2000).

L'acquisition du fer est importante dans la virulence des souches APEC. Cela est illustré par la présence des gènes codant pour quatre systèmes d'acquisition du fer (aérobactine, Sit ABC, salmochelin, et Tsh) dans le plasmide de la virulence de la souche $O_{78}K_{80}$ APEC - 1 (Johnson *et al.*, 2006 ; Mellata *et al.*, 2009).

Récemment, des gènes sont dressés sur la carte génomique à une région conservée de 93 kb, dont l'opéron est situé sur plasmide ColV, pAPEC-O2-ColV (Johnson *et al.*, 2006). La transformation des souches aviaire *E. coli* commensal par ce plasmide induit l'augmentation significative du pouvoir létal des souches sur les embryons de poulet et l'aptitude de coloniser les reins des espèces murines (Skyberg *et al.*, 2006).

VI.4. Toxines

En plus de l'endotoxine structurale de la paroi bactérienne (LPS), les souches APEC sont capables de produire l'*Escherichia coli* vacuolating factor ou ECVF. Cette toxine ressemble à la toxine VacA produite par *Helicobacter pylori*. ECVF est décrite chez une trentaine de souches *E. coli* aviaires dont 14 réputées pathogènes (Salvadori *et al.*, 2001). Codée par l'îlot de pathogénicité appelé VAT-PAI, elle contribue à la virulence des APEC (Parreira et Gyles, 2003).

D'autres types de toxines sont rapportés chez les souches APEC, mais avec des rôles obscurs dans la pathogénie, incluant l'entérohémolysine, CNF1 (Cytotoxic Necrotizing Factor 1), CDT (Cytolethal Distending Toxin) (Blanco *et al.*, 1997b), VT2y, semblable à la toxine VT2v associée à la maladie de l'œdème du porcelet, et présente chez 72% des souches associées à la forme "*Swollen head disease*" (Katwa *et al.*, 1992 ; Parreira *et al.*, 1998 ; Parreira et Yano, 1998).

Des séquences du gène codant pour la Shigatoxine sont détectées chez APEC par PCR mais l'évidence de leur expression est limitée (Parreira et Gyles, 2002).

VI.5. Hémagglutination

La protéine Tsh est une hémagglutinine. Il est démontré récemment que le gène *tsh* localisé sur le plasmide ColV codant pour une hémagglutinine thermolabile isolé d'une souche APEC de poulet, est associé préférentiellement aux souches APEC pathogènes, et n'est pas retrouvé chez les souches *E. coli* isolées de fèces d'animaux sains (Provence et Curtiss, 1994 ; Dozois *et al*. 2000).

De plus, des études menées avec un mutant *tsh* montrent que la protéine Tsh peut contribuer au développement des lésions au niveau des sacs aériens, mais elle n'est pas nécessaire à la bactérie pour coloniser l'ensemble de l'animal, et de créer les lésions de péricardite, périhépatite et d'induire la septicémie (Dozois *et al.,* 2000).

La prévalence du gène *tsh est* investiguée sur une collection de 300 souches APEC testées sur le modèle poussin d'un jour. Les résultats indiquent que parmi les souches possédant le gène *tsh*, 90,6% font partie des souches les plus virulentes (Dozois *et al.*, 2000).

VI.6. Gènes régulateurs de virulence

Il est bien connu que l'expression de la virulence bactérienne est régulée par des systèmes sensibles et s'adaptant aux changements de l'environnement. Un système bien connu est le BarA-UvrY. Système à deux-composants, il est démontré qu'il régule la virulence des souches APEC en diminuant l'expression des fimbriae type 1 et fimbriae Pap, en augmentant la susceptibilité au stress oxydatif et en réduisant la quantité de polysaccharide de surface (Herren *et al.*, 2006).

De plus, un système spécifique de transport du phosphate est aussi lié à la virulence des souches APEC χ7122 (Lamarche *et al.*, 2005).

VII. Pathogénie

La voie d'entrée principale de l'agent pathogène est le tractus respiratoire, via l'inhalation de particules de poussière contaminées par des *E. coli* excrétés du tractus digestif d'animaux sains, qui constituent une source importante de contamination en élevage (Gyles et Fairbrother, 2010).

Après une première multiplication au niveau du tractus respiratoire supérieur, les bactéries colonisent les voies respiratoires profondes, à savoir les sacs aériens et les poumons. Dans une troisième étape, la bactérie atteint le sang et colonise les organes internes comme le cœur, le foie et la rate (Jordan et Pattison, 1996).

La susceptibilité des oiseaux à l'infection par des APEC est augmentée par la déciliation des cellules épithéliales du tractus respiratoire supérieur après exposition au gaz ammoniac et poussière dans l'environnement des oiseaux. L'infection du tractus respiratoire du poulet par les APEC se traduit par une dépression et de la fièvre chez les sujets âgés de 4 à 9 semaines et une mortalité supérieure à 20% (Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).

APEC peut infecter l'oviducte à partir du sac aérien abdominal gauche, provoquant une salpingite et perte de la capacité d'ovulation, et peut envahir sporadiquement le péritoine via l'oviducte, en provoquant une péritonite et la mort (Barnes *et al.*, 2003).

La source majeure d'infection de l'œuf semble être la contamination fécale de sa surface lors de la ponte avec, ensuite, une transmission rapide de la souche pathogène à l'ensemble du lot après l'éclosion (Gross, 1994 ; Jordan et Pattisson, 1996 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).

VIII. Les infections à *E. coli*

Contrairement à ce qui se passe chez les mammifères, *Escherichia coli* chez les volailles est assez peu impliqué en pathologie digestive mais participe à des syndromes variés évoluant sous formes septicémiques ou localisées ou des formes chroniques. Il s'agit d'infections le plus souvent secondaires apparaissant quand les défenses de l'hôte sont altérées ou submergées (Barnes *et al.*, 2003).

VIII.1. Les formes localisées

VIII.1.1. Omphalite / inflammation du sac vitellin

Cette forme de la maladie constitue, avec les erreurs d'élevage (hygiène en amont de l'éclosion et en éclosoir) probablement, la cause la plus importante de mortalité chez les poussins âgés de moins d'une semaine (Villate, 2001).

La contamination de l'œuf, et plus précisément de la membrane vitelline, se fait essentiellement lors de la ponte. Les souches *E. coli,* alors présentes dans les matières fécales de

la poule, viennent se déposer à la surface de l'œuf lors du passage de celui-ci par le cloaque. Ensuite, elles pénètrent à travers les membranes coquillières et vont contaminer la membrane vitelline. La possibilité de contamination des œufs à partir de lésions de salpingite ou d'ovarite existe mais reste peu fréquente (Montgomery *et al.,* 1999).

De 0,5 à 6% des œufs sont contaminés par *E. coli*. Dans cette pathologie, on peut considérer que celui-ci est l'agent primaire de l'infection (Jordan et Pattisson, 1996 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).

Les mortalités embryonnaires sont constatées un peu avant l'éclosion : les œufs contaminés présentent une coquille de moindre qualité, sont plus chauds et leur surface est mouillée. Les mortalités se poursuivent encore après l'éclosion et ce pendant une période de 3 semaines l'ombilic est œdémateux et enflammé, avec présence de croûtes, le sac vitellin est mal résorbé, avec une paroi opacifiée et congestionnée, un contenu verdâtre à jaunâtre et de consistance aqueuse à grumeleuse (Guérin et *al.,* 2012).

Les retards d'involution de la vésicule vitelline sont fréquents chez les poussins contaminés. Ceux qui passent le cap des 3 semaines présentent bien souvent des lésions d'aérosacculite et de péricardite. Parfois, cependant, la seule manifestation de la maladie est la réduction du gain moyen quotidien (Jordan et Pattisson, 1996 ; Guérin et *al.,* 2011).

VIII.1.2. Dermatite nécrotique « cellulite » (processus inflammatoire)

La cellulite est rare chez les mammifères, mais relativement courante chez les oiseaux. Elle peut avoir de nombreuses causes, mais l'infection à *E. coli* est la plus fréquente chez les poulets. Pour cette raison, le terme cellulite a été utilisé comme synonyme de cellulite d'origine colibacillaire. Cependant, la cellulite chez les dindes ne sont pas fréquemment associée à une infection à *E. coli* (Carr *et al.,* 1996; Olkowski et *al.,* 1998 ; Gomis *et al*., 2002).

C'est une maladie de surpeuplement et de mauvaise hygiène, issue d'un processus infectieux ou inflammatoire, entraînant un exsudat inflammatoire caséeux et l'apparition de plaques de fibrine sous la peau située dans la partie inferieure de l'abdomen et sur les cuisses. Elle n'entraine ni mortalité ni signes cliniques mais est responsables de pertes économiques substantielles, notamment à l'abattoir (carcasse saisie) (Guérin *et al.,* 2012).

Dans ce type de lésions, *E. coli* est toujours la bactérie qui prédomine. $O_{78}K_{80}$ est le sérotype le plus fréquemment impliqué, ainsi que les sérotypes O_1 et O_2 qui sont parmi les

organismes les plus régulièrement isolés des lésions subcutanées (La Ragione et Woodward, 2002). Par ailleurs, de telles lésions ont pu être reproduites par inoculation des follicules plumifères à l'aide de souches du sérotype O_{78} (Glunder, 1990).

VIII.1.3. Syndrome de la grosse tète "Swollen head disease "

Cette maladie est caractérisée par une inflammation aiguë à subaiguë des cellules de la peau et du tissu sous-cutané de la tête et des régions périorbitaires. Elle a été décrite pour la première chez les poulets en Afrique du Sud, et l'infection à *E.coli* été associée à un coronavirus identifié (Morley et Thomson, 1984). Ensuite la maladie a été décrite dans les zones de forte production aviaire et elle affecte aussi bien la dinde et la pintade (Barnes *et al.,* 2003).

Le gonflement de la tête est causée par un exsudat inflammatoire sous la peau qui s'accumule suite à la colonisation des tissus par les colibacilles qui sont secondaire à une infection par des agents prédisposants comme les virus (pneumovirus, paramyxovirus, coronavirus) ou des teneurs élevées en ammoniac (White *et al.,* 1990). Les lésions microscopiques consistent en l'apparition d'un œdème de la tête et de la région périorbitaire, d'un exsudat caséeux dans le tissu conjonctif de ces même régions ainsi qu'au niveau des glandes lacrymales (Pattison *et al.*, 1989).

La morbidité est souvent faible (1 %), mais les animaux présentant les symptômes en meurent dans la majorité des cas (Parreira *et al.*, 1998). La maladie apparaît le plus souvent aux alentours de la $30^{ème}$ semaine et les conséquences les plus importantes sont des retards de croissance qui résultent de l'infection et entraînent des pertes économiques conséquentes.

VIII.1.4. La maladie diarrhéique

L'entérite primaire chez la volaille causée par des souches *E. coli* est considérée comme rare, ou même inexistante. Toutefois, des souches *E. coli* entérotoxinogène (ETEC) qui élaborent des toxines capables de provoquer une accumulation de liquide dans les anses intestinales ligaturées de poulets ont été isolées à partir de poulets atteints de diarrhée (Joya *et al.,* 1990 ; Akashi *et al*., 1993).

Le virus de la bursite infectieuse chez les poulets, l'adénovirus chez le pigeon ont été considérés comme possible facteurs prédisposant à l'infection par des *E.coli* EAEC. Oiseaux atteints par EAEC peuvent présenter de la diarrhée et être déshydraté. Les intestins sont pâles et distendu par des fluides, notamment les ceaca, qui sont remplis de liquide et peuvent contenir des

gaz. Les bactéries se fixent intimement à la surface des entérocytes, ce qui provoque l'effacement des microvillosités, facilement observable en microscopie électronique. Les lésions sont plus fréquentes dans le caecum. Les organismes sont identifiés aisément en utilisant des coupes tissulaires après coloration de Giemsa ou par des procédés immuno-histo-chimiques (Barnes *et al.*, 2003) .

Chez les dindonneaux, la coïnfection avec le coronavirus provoque un retard de croissance sévère et une mortalité très élevée (Guy *et al.*, 2000). Certaines souches de *E. coli* ont été associées au syndrome entérite, frilosité, baisse de croissance de la dinde (PEMS) (Edens *et al.*, 1997a,b). Un astrovirus qui affecte la dinde, un agent impliqué dans le PEMS, altère la fonction des macrophages, ce qui pourrait expliquer la susceptibilité accrue de dindonneaux affectés à des infections bactériennes secondaires telles que la colibacillose (Qureshi *et al.*, 2001).

VIII.1.5. Colibacillose vénérienne (vaginite aiguë)

La colibacillose vénérienne est une infection aiguë, souvent mortelle, c'est une vaginite qui affecte la dinde reproductrice peu après la première insémination. La perforation de l'hymen de jeunes dindes peut conduire à une infection localisée à *E. coli* et grave qui se traduit par une vaginite, prolapsus cloacal et intestinale, une péritonite, rétention d'œuf, et ponte intra abdominale. La muqueuse affectée est nettement épaissie, ulcérée, et recouvert de membrane diphtéroïde, caséo-nécrotique, conduisant a l'obstruction des voies génitales inférieures. La mortalité peut atteindre les 8% du troupeau. Le taux de ponte est inférieur à la normale, avec un nombre important d'œufs de réforme de petite taille (Gazdzinski et Barnes, 2002).

VIII.1.6. Salpingite / péritonite (adultes).

La salpingite colibacillaire se traduit par une chute de ponte et de la mortalité sporadique chez les poules pondeuses et des reproductrices. Elle est l'une des causes les plus fréquentes de mortalité chez les poules pondeuses (Bisgaard et Dam, 1981).

Cette forme de colibacillose touche aussi les femelles d'autres espèces d'oiseaux, notamment les canards et les oies (Bisgaard, 1995). L'infection survient par voie ascendante lorsque *E. coli* atteint l'oviducte via le cloaque, ou par propagation à l'oviducte à partir d'une aérosacculite, cette dernière est plus fréquente chez les jeunes oiseaux lors d'infection systémique (Barnes *et al.*, 2003).

La forte production des œufs et l'activité ostrogénique associée prédisposent à la salpingite en relaxant le sphincter entre le vagin et le cloaque. L'infection des muqueuses par le virus de la bronchite infectieuse ou les mycoplasmes peuvent aussi prédisposer à une salpingite. L'oviducte est remarquablement distendu et les parois minces, avec des masses uniques ou multiples d'exsudat caséeux tout au long de l'oviducte.

La masse de l'exsudat peut se dilater au point qu'elle remplit une grande partie de la cavité abdominale, l'exsudat est malodorant et contient souvent un œuf central, des coquilles, et / ou des membranes. L'extension à la cavité abdominale via la rupture de la paroi de l'oviducte conduit à une péritonite simultanée. Une péritonite due à une ponte intra-abdominale sans salpingite peut également se produire, elle peut être grave si *E. coli* est présente en raison d'une infection ascendante (Gross et Siegel, 1959). Les oiseaux affectés ne peuvent pas produire et pondre des œufs.

VIII.2. Les formes systémiques de colibacillose « colisepticémie »

La colisepticémie est caractérisée par la présence d'*E. coli* dans le courant sanguin. La virulence de la souche et l'efficacité des moyens de défense de l'hôte détermine la durée, le degré et l'issue de la maladie, ainsi que le type et la sévérité des lésions (Pourbakhsh *et al.*, 1997a,b). Les différentes étapes par les quelles passe la colisepticémie sont : septicémie aiguë, colibacillose respiratoire avec polysérositée subaiguë et enfin une coligranulomatose chronique (Chevile et Arp, 1978). Plusieurs formes cliniques de colisepticémie peuvent être distinguées, selon la façon dont *E.coli* a eu l'accès à la circulation sanguine, l'âge, et l'espèce d'oiseau affectée (Barnes *et al.*, 2003).

VIII.2.1. Colibacillose respiratoire (colisepticémie d'origine respiratoire)

Elle affecte le poulet et la dinde, elle est l'expression principale de la coli septicémie, *E. coli* atteint la circulation sanguine après lésion de la muqueuse respiratoire par des agents infectieux comme les mycoplasmes (*Mycoplasma gallisepticum*), à une virose à tropisme respiratoire (bronchite infectieuse) ou immunosuppressive (maladie de Gumboro), à un accident de vaccination ou non infectieux une concentration trop élevée en agents irritants dans l'air (poussière ou ammoniac) (Nakamura *et al.*, 1992 ; Ginns et *al* ., 1998 ; Gyles et Fairbrother, 2010).

Un taux de mortalité pouvant atteindre dans certains cas 30 à 50% et est essentiellement présente chez les animaux de 2 à 12 semaines, avec une fréquence supérieure entre 4 et 9 semaines (Gross, 1994 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).Toutefois, les pertes sont plus souvent d'ordre économique, avec un taux de morbidité pouvant dépasser 50%, une réduction significative de la croissance des animaux et une augmentation de l'indice de consommation et des saisies à l'abattoir (Yogaratnam, 1995 ; Elfadil *et al.*, 1996).

VIII.2.1.1. Sur le plan clinique

En premier lieu, on rencontre une chute importante de la consommation alimentaire. Ensuite, de l'abattement accompagné d'hyperthermie (42 à 44°C). Les animaux les plus atteints présentent alors des signes de détresse respiratoire :

- Bec ouvert ;
- Respiration accélérée et irrégulière ;
- Râles, toux, éternuements ;
- Jetage, larmoiement, sinusite.

VIII.2.1.2. Sur le plan lésionnel

Les organes les plus touchés sont les sacs aériens, le foie, le cœur et, par contiguïté de tissu, la cavité abdominale (péritonite) (Cheville et Arp, 1978 ; Pourbakh *et al*., 1997b) .

- **Cœur** : Péricardite. Le péricarde prend un aspect opaque et œdémateux et se remplit d'un exsudat fibrineux.
- **Sacs aériens :** Aérosacculite. Les sacs perdent leur transparence, s'épaississent et présentent un aspect congestif.
- **Foie et rate** : les lésions sont surtout localisées en périphérie de ceux-ci, et sont caractérisées par de la congestion, un épaississement du tissu et un dépôt de fibrine. Ce dépôt est parfois tellement important que la surface de l'organe prend l'aspect d'une crêpe (Jordan et Pattison, 1996).

VIII.2.1.3. Sur le plan microscopique

Apparition d'un œdème suivi d'une infiltration d'hétérophiles. Puis, dans un second temps, apparaissent les phagocytes qui deviennent rapidement majoritaires. Les lésions sont alors

caractérisées par la présence de ceux-ci, de cellules géantes et de débris nécrotiques caséeux (Gross, 1994).

VIII.2.2. Colisepticémie d'origine intestinale

Colisepticémie d'origine intestinale est la forme la plus fréquente chez la dinde, *E.coli* atteint la circulation sanguine après des dommages causés à la muqueuse intestinale par les agents infectieux (Barnes et *al.,* 2003). L'agent le plus usuellement prédisposant est le virus de l'entérite hémorragique (Newberry *et al*., 1993 ; Pierson *et al*., 1996 ; Shawky *et al*., 2000).

VIII.2.2.1. Sur le plan clinique

Elle se traduit par des mortalités brutales, les oiseaux affectés sont en bonne condition physique et leur jabot contient des aliments et / ou de l'eau, ce qui indique la nature aiguë de l'infection (Barnes et *al.,* 2003).

VIII.2.2.2. Sur le plan lésionnel

Les lésions de la forme aigüe sont typiques et non exsudatives (Cheville et Arp, 1978) :

Foie : hypertrophié, décoloration intense, avec quelques zones de dégénérescence, parfois de coloration verdâtre.
Rate : hypertrophiée, congestionnée avec parfois des points de nécrose.
Rein : néphrite, dépôt d'urate.
Les muscles : congestionnés ;
Intestin : ampoule cloacale distendue par des gaz et des matières liquides blanchâtres.
Légère ascite : aspect brillant des viscères par le liquide abdominal inflammatoire (Villate, 2001 ; Barnes *et al.,* 2003; Guérin *et al.,* 2011).

VIII.2.3. Colisepticémie Néonatale

Les poussins sont affectés dans les premières 24-48 heures après l'éclosion. La mortalité reste élevée durant 2 à 3 semaines et totalise habituellement 10 à 20%. Jusqu'à 5% du troupeau peuvent être chétifs et nécessitent l'abattage. Les lésions observées initialement sont des poumons congestionnés, œdème des séreuses, et splénomégalie. Après quelques jours, des poly sérosités fibrineuses du péricarde, de la plèvre, des sacs aériens, et du péritoine deviennent évidentes (Barnes et *al.,* 2003).

Chez les oiseaux qui survivent jusqu'à la deuxième semaine les lésions sont souvent prolifératives et sévères. Occasionnellement, on rencontre des oiseaux atteints d'arthrite et / ou une ostéomyélite à la fin de la maladie, ceux qui sont plus touchés présentent un abcès du sac vitellin qui laisse penser que l'ombilic est la porte d'entrée (Montgomery et *al.,* 1999).

VIII.2.4. Septicémie aiguë des pondeuses

Colisepticémie est le plus souvent une maladie de jeunes oiseaux, mais des flambées à l'occasion de l'infection par *E. coli* aiguë ressemblant à la typhoïde ou le choléra aviaire se produisent chez les poulets et les dindes adultes (Barnes et Lozano, 1994 ; Dhillon et Jack, 1996 ; Zanella et *al.,* 2000). L'apparition est généralement liée a l'entrée en ponte, mais continue avec le vieillissement du troupeau et peut se propager pour affecter des troupeaux plus âgés sur la même ferme. La mortalité est généralement soudaine et comprise entre 5% et 10%. Les lésions sont typiques de colisepticémie aiguë. Les isolats incriminés sont lactose négatifs et appartiennent aux sérogroupes O85 ou O111. La pathogénie de la maladie est inconnue, mais le stress associé au début de ponte est considéré comme un facteur prédisposant important (Zanella *et al*., 2000).

VIII.2.5. Septicémie des canards

Elle apparait tout au long de la phase de croissance, mais devient plus fréquente à la fin de l'automne et en hiver. Les canetons de tous âges sont sensibles. Caractériser par un exsudat humide, granuleux à caillé et d'épaisseurs variables provoquant une péricardite, périhépatite et aérosacculite. Une odeur caractéristique est souvent perceptible à l'autopsie. Le foie est souvent hypertrophié, sombre, coloré avec la bile, la rate est hypertrophiée et sombre. *E. coli* O78 est couramment isolée à partir des organes internes (Leibovitz, 1972). *Riemerella anatipestifer* provoque des lésions similaires.

VIII.3. Les Séquelles de la colisepticémie ou « colibacillose chronique »

La mort est l'issue courante de la colisepticémie, mais certains oiseaux peuvent récupérer partiellement avec des séquelles ou guérir complètement. Si *E.coli* n'est pas contrôlée, elle peut se localiser dans les sites faiblement protégés comme le cerveau, les yeux, les tissus synoviaux (articulations, gaines tendineuses, bourse sternale) et les os (Barnes et *al.,* 2003).

VIII.3.1. Méningite colibacillaire

La localisation des *E. coli* dans le cerveau est rare. L'atteinte des méninges (méningite) mais chez certain oiseaux il y'a une encéphalite. A l'examen nécropsique, les lésions méningées sont évidentes : des zones de décoloration adjacente aux principaux vaisseaux sanguins (Barnes *et al*., 2003).

VIII.3.2. Panophtalmie

Comme le cerveau, l'atteinte de l'œil est rare. Toutefois, si il est infecté la résultante est sévère (Nakamura et Abe, 1987). En règle générale, il y a hypopyon et / ou hyphéma, et l'infection est unilatérale. L'œil est gonflé, nuageux à opaque, et peut être hyperémie initialement. Plus tard, l'œil se rétrécit comme il subit une atrophie. Divers degrés de décollement de la rétine et une atrophie et une lyse de la lentille peuvent également être aperçu. L'organisme persiste dans les yeux malades pendant longtemps (Barnes *et al*., 2003).

VIII.3.3. Osteoarthrites et synovites

Les colibacilles peuvent surinfecter des maladies primitives (arthrite à réovirus, synovite à *Mycoplasma synoviae*) ou être inoculés par des blessures ou traumatismes (Guerin et *al.*, 2012). Après avoir été affectés par la colisepticémie, les oiseaux semblent ne pas pouvoir éliminer complètement la maladie, permettant ainsi la localisation d'*E. coli* dans les articulations et les synoviales, et un grand pourcentage de dindons développe ces lésions après traitement avec la dexaméthasone ou après inoculation *d'E. coli* dans les sacs aériens (Huff *et al.*, 2000).

VIII.3.4. Complexe ostéomyélite de la dinde (COD)

Chez la dinde la dissémination des *E.coli* par voie sanguine après atteinte par le virus de l'entérite hémorragique, provoque des synovites, des ostéomyélites et décoloration verdâtre du foie (Heller *et al*., 1990 ; Droual et *al.*, 1996). Sont atteints le tibia proximal, humérus proximal et le fémur proximal et l'arthrite touche fréquemment les articulations de l'épaule et de la hanche (Mutalib *et al*., 1996). Plusieurs bactéries sont incriminées lors de COD mais les plus souvent isolées a partir des lésions sont *staph aureus, staph hyicus et E.coli* (Clark et *al.*, 1991 ; Tate et *al.*, 1993 ; Droual et *al.*, 1996).

VIII.3.5. La coligranulomatose « la maladie de Hjarre »

L'expression de cette maladie est retrouvée à l'âge adulte et associée à des mortalités sporadiques. Elle est peu fréquente, mais peut cependant entraîner un taux de mortalité avoisinant 75 % dans certains lots. Les lésions chez le poulet et la dinde sont caractérisées par l'apparition de granulomes dans le foie, le caecum, le duodénum et le mésentère ressemblant à des lésions de leucose. Les animaux présentent peu de symptômes avant leur mort si ce n'est une perte de condition et de l'abattement. La mort survient suite à la rupture de ces granulomes (Morishita et Bickford, 1992 ; Guérin *et al*., 2011) .

IX. Diagnostic

IX.1. Clinique

Il repose d'abord sur le tableau clinique et la présence de lésions telles que de l'aérosacculite, parfois accompagnée de périhépatite et de péricardite, et seuls un isolement et une identification de l'agent responsable, sur base de réactions biochimiques, permettront de confirmer la maladie. Les prélèvements seront réalisés à partir du sang du cœur et des tissus affectés (foie, rate, sac péricardique) en évitant toute contamination par le contenu intestinal (Strodeur et Mainil, 2002).

IX.2. Diagnostic différentiel

Les lésions rencontrées lors de colibacilloses peuvent aussi être engendrées par d'autres agents pathogènes cités dans le tableau 3 ci-dessous :

Tableau 3 : Diagnostic différentiel de la colibacillose aviaire (Grosse, 1994 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999)

Lésions	Agents pathogènes incriminés
Aérosacculite	*Mycoplasma* spp, *Chlamydia* spp (dinde)
Périhépatite	*Salmonella* spp, *Pasteurella* spp
Omphalite / infection du sac vitellin	*Aerobacter* spp, *Klebsiella* spp, *Proteus* spp, *Salmonella* spp, *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp
Septicémies aigües	*Pasteurella* spp, *Salmonella* spp, *Streptococcus* spp, *Streptobacillus moniliformis*
Synovites	Infection virale (*Reovirus*), ou à *Mycoplasma synoviae, Staphylococcus aureus, Salmonella* spp
Granulomes	Infection virale (maladie de Marek) ou bactérienne (*Mycobacterium avium, Eubacterium, Bacteroides*)

X. Traitement

Il repose essentiellement sur l'antibiothérapie. Les antibiotiques utilisés sont ceux actifs contre les Gram négatif. Il est souhaitable de traiter les colibacilles après un antibiogramme raisonné, et suffisamment longtemps (5 jours minimum) pour éviter les antibiorésistances. La dose thérapeutique habituelle de la plupart des antibiotiques est de 10 à 20 mg/kg de poids vif (Vilatte, 2001). Leur choix est aussi guidé par la forme de la colibacillose :

Forme respiratoire : Etant donné la fréquence de l'association colibacilles-mycoplasmes, il est souvent indispensable d'opter pour l'association de macrolides à des aminosides, telles que streptomycine-spiramycine ou streptomycine-tylosine (Brugère-Picoux, 1984**).** Les aminosides et polypeptides peuvent aider à la maîtrise de colibacilles pathogènes respiratoires (Vilatte, 2001 ; Guérin *et al*., 2011).

Forme septicémique : Dans cette forme, l'antibiotique doit être actif par élimination tissulaire et présenter une bonne absorption intestinale afin de pouvoir diffuser dans tout l'organisme. C'est le cas des nitrofuranes et de l'association triméthoprime-sulfamides (Borne, 1998 ; Guérin *et al*., 2011).

Forme digestive : L'indication portera sur les antibiotiques très actifs *per os* et ne traversant pas la paroi intestinale, ce qui permettra leur concentration dans le tube digestif, comme les aminosides (Gentamicine, Streptomycine) et les polypeptides (Colistine) (Mogenet et Fedida, 2004).

XI. Prophylaxie

XI.1. Sanitaire

Elle vise à contrôler les contaminations environnementales et par les vecteurs animés ou inanimés :

- Contrôler les contaminations des œufs par fumigation dans les 2 heures qui suivent la ponte, en les récoltant le plus vite possible après la ponte et en écartant ceux en mauvais état ou présentant des souillures fécales à leur surface (Gross, 1994).

- En garantissant des animaux indemnes de mycoplasmes et en contrôlant certains facteurs environnementaux comme l'humidité, la ventilation, la teneur en poussière et en ammoniac dans l'air, les infections du tractus respiratoire peuvent être réduites (Vilatte, 2001 ; Guérin *et al*., 2011).

- Séparation des animaux par classes d'âge et par espèces, nettoyage, désinfection et vide sanitaire entre chaque lot sont aussi des mesures de prévention indispensables dans le cadre de la lutte contre la colibacillose (Jordan et Pattisson, 1996 ; Vilatte, 2001 ; Guérin *et al*., 2011).

XI.2. Médicale

Même si un certain nombre d'essais vaccinaux sont effectués à l'aide de souches atténuées, en modèles expérimentaux et couronnés de succès avec des souches homologues, ils n'en restent pas moins inefficaces envers des infections avec des souches hétérologues de terrain (Dho-Moulin et Fairbrother, 1999). En dehors des vaccins expérimentaux, aucun vaccin efficace n'est disponible sur le marché vétérinaire. Une antibio-prévention réfléchie et adaptée peut être utile (Vilatte, 2001 ; Guérin *et al.,* 2011).

CHAPITRE III : LES ANTIBIOTIQUES ET LES ANTIBIORESISTANCES

Sous chapitre I : Les antibiotiques et leurs mode d'action

I. Définition

Les antibiotiques (ATB), au sens strict, sont des molécules élaborées par certains micro-organismes, bactéries ou champignons, comme *Streptomyces, Bacillus, Penicillium, Cephalosporium*, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. Ces molécules, à faibles doses, ont le pouvoir d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs (Euzeby, 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008).

II. Historique

En 1877, Pasteur et Joubert observent qu'un micro-organisme se multiplie mal dans un liquide envahi de moisissures. Ernest Duchesne, en 1897 remarque que les palefreniers enduisent de moisissures, recouvrant ainsi, les cuirs placés dans des endroits chauds, humides et sombres des écuries, pour éviter que les plaies de leurs chevaux ne s'infectent. Il décrit ainsi l'inhibition de la croissance des micro-organismes par une moisissure, un *Penicillium*.

En 1929, Fleming découvre un *Penicillium* sur une boîte de Pétri. Il met en évidence l'inhibition du staphylocoque doré par cette culture de *Penicillium*. En 1940, Chain obtient une forme stable et utilisable *in vivo* (essais sur des souris) de la pénicilline, qui permettra l'élaboration du premier antibiotique. En 1942, production à l'échelle industrielle de la pénicilline qui sera utilisée et bénéfique pendant la 2ème guerre mondiale. (Nauciel et Vildé, 2008).

III. Caractéristiques

III.1. Toxicité sélective

L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactéries d'autre part. Pour être actif, un antibiotique :

- Doit pénétrer les tissus jusqu'à atteindre sa cible bactérienne ;
- Ne doit pas être inactivé ;
- Doit être capable de se lier à sa cible.

Ce sont là les conditions nécessaires à l'activité antibactérienne (Alami *et al.*, 2005).

III.2. Spectre d'activité

Pour un antibiotique donné, l'activité antibactérienne ne s'exerce que vis-à-vis de certaines espèces bactériennes, ce qui définit son spectre d'activité (Nauciel et Vildé, 2008).

Les espèces constamment résistantes possèdent ce qu'on appelle une résistance naturelle, lorsque, dans une espèce sensible à un antibiotique, des souches résistantes apparaissent, on utilise le terme de résistance acquise (Alami *et al.*, 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.3. Activité antibactérienne

C'est l'effet de l'ATB sur une bactérie, allant de l'inhibition de la croissance bactérienne (bactériostase) à la mort de la bactérie (bactéricidie) (Nauciel et Vildé, 2008).

III.3.1. La bactériostase (effet bactériostatique)

C'est l'inhibition ou le ralentissement temporaire de la croissance bactérienne par l'ATB, l'effet est réversible : dès l'arrêt de l'antibiothérapie, la croissance des micro-organismes reprend (Helali, 2002 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.3.2. La bactéricide (effet bactéricide)

C'est l'effet d'un ATB qui tue les bactéries. Il se traduit par la réduction du nombre initial des bactéries (Yeni, 2003 ; Nauciel et Vildé, 2008).

IV. Classification

L'abondance des molécules a rendu nécessaire leur classification selon plusieurs critères, en prenant d'abord en compte la structure chimique, en familles et sous-familles.

Toutefois, pour un praticien, les critères les plus importants sont le mode d'action, bactéricide ou bactériostatique, et le spectre d'activité (Alami *et al.*, 2005 ; Abdennebi, 2006).

V. Mode d'action des principales familles d'antibiotiques

La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques de la bactérie, entraînant ainsi la perturbation de diverses réactions métaboliques. Cette action est propre à chaque famille d'antibiotiques (Page *et al.*, 1999 ; Poyart, 2003 ; Nauciel et Vildé, 2008).

On distingue quatre grands modes d'action (Alami *et al.*, 2005) (figure 2) :

- Action sur la synthèse de la paroi bactérienne ;
- Action sur la synthèse protéique ;
- Action sur la synthèse des acides nucléiques ;
- Action inhibitrice sur la membrane cytoplasmique.

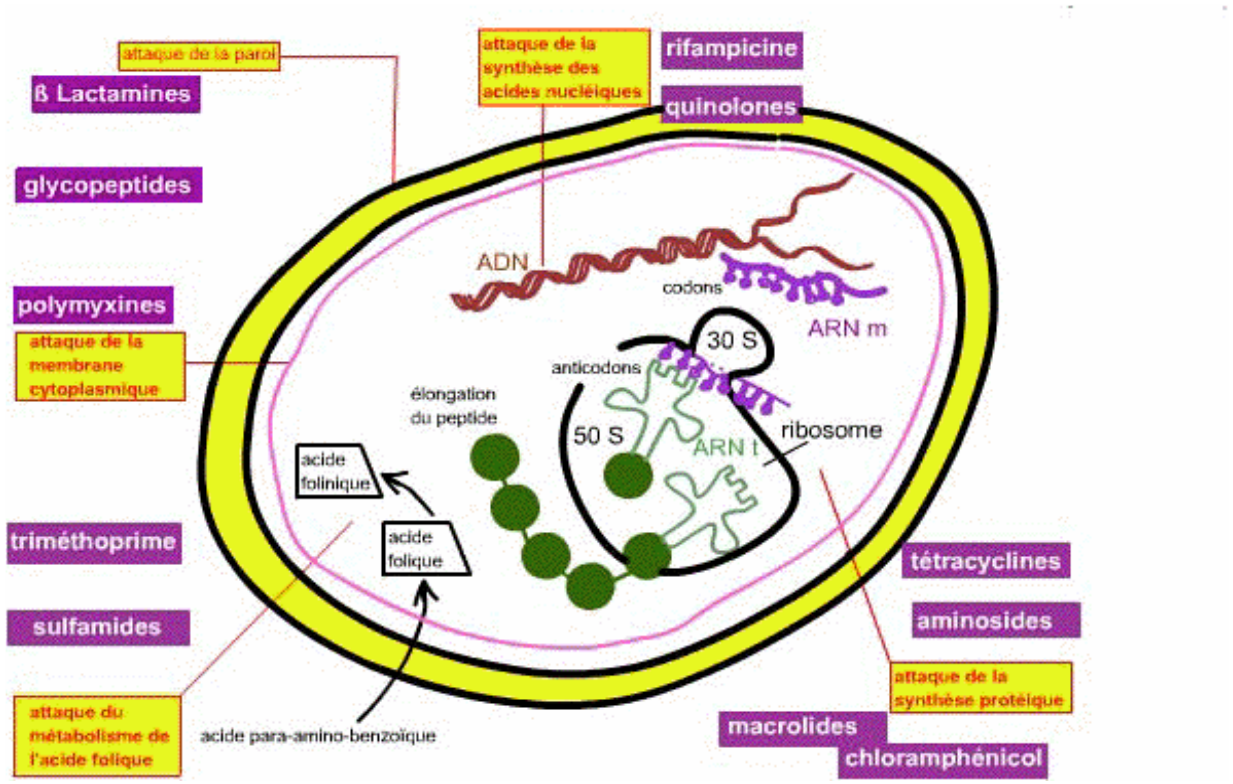


Figure 2 : Différent mode d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007).

V.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane (paroi)

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

peptidoglycane. Il en résulte une altération de la paroi ayant un effet létal pour la bactérie (Neal, 2007 ; Nauciel et Vildé, 2008).

V.1.1. β-lactamines

Il existe de nombreuses variétés de β-lactamines qui se distinguent par leur spectre d'activité et leurs propriétés pharmacologiques : pénicillines, céphalosporines et autres. Elles ont en commun un noyau β-lactame présentant une analogie structurale avec la terminaison D-ala-D-ala du précurseur du peptidoglycane. Elles se fixent de manière covalente sur des protéines membranaires, appelées « protéines de liaison à la pénicilline » (PLP). Ces protéines sont des enzymes impliquées dans la phase finale de la synthèse du peptidoglycane, c'est-à-dire l'étape de polymérisation à partir de sous-unités faites d'un disaccharide-peptide.

L'activité enzymatique des PLP est inhibée par leur liaison avec les β-lactamines. Une bactérie contient plusieurs variétés de PLP. L'affinité des β-lactamines pour les PLP peut varier selon les β-lactamines et selon les PLP (Nauciel et Vildé, 2008).

Les Aminopénicillines (ampicilline et amoxicilline) peuvent être prescrites chez la volaille en cas de colibacillose, de pasteurellose. Les doses quotidiennes sont de 20-40 mg/kg *per os* ou 10-20 mg/kg en injection IM ou SC pendant 3 à 5 jours (Villate, 1997 ; Mogenet et Fedida, 2004).

V.1.2. Glycopeptides

Les molécules se lient au dipeptide terminal D-ala-D-ala du peptidoglycane**.** Cette fixation de type clé-serrure empêche le fonctionnement normal des transpeptidases et des transglycosylases, entraînant l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane et secondairement la mort de la bactérie. Leur volume important les empêche d'emprunter les porines de la membrane externe et ne peuvent donc atteindre le peptidoglycane par voie de polymérisation, ce qui explique qu'ils soient inactifs contre les bactéries Gram négatif (Alami *et al.*, 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008).

V.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

Plusieurs familles d'antibiotiques peuvent inhiber, par différents mécanismes, l'élongation de la chaîne polypeptidique chez les bactéries (figure 3).

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

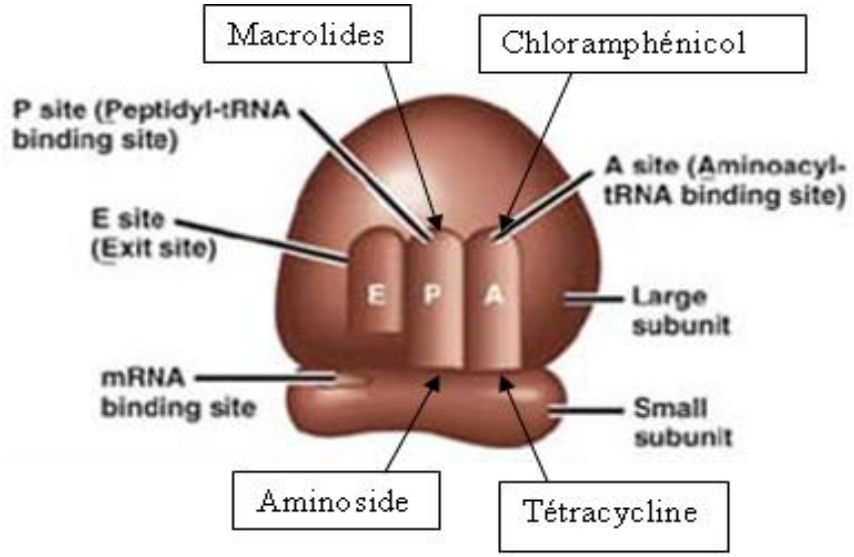


Figure 3 : Action des antibiotiques sur la synthèse protéique (Lavigne, 2007)

V.2.1. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome

VI.2.1.1. Aminosides

Le premier antibiotique de cette famille est la streptomycine. Les plus employées actuellement sont la gentamicine et la netilmicine. Ces antibiotiques se distinguent par leur capacité à résister aux différentes enzymes pouvant les inactiver. Ils peuvent être toxiques pour les fonctions auditives ou vestibulaires et pour les fonctions rénales (Nauciel et Vildé, 2008).

Ils inhibent l'initiation de la réplication de l'ADN et interviennent à plusieurs stades de la synthèse protéique, en se fixant sur des sites divers des sous-unités 30S des ribosomes bactériens et induisent des erreurs de lecture du codon et la synthèse de protéines anormales. Ils inhibent aussi la fixation du complexe ARNt-AA au complexe ribosome-ARNm (Moulin et Coquerel, 2002).

V.2.1.2. Tétracyclines

Elles sont éliminées par voie biliaire et urinaire, et restent actives sur certaines bactéries à développement intracellulaire comme les *Brucella, Chlamydia, Mycoplasma* et *Rickettsia* (Nauciel et Vildé, 2008). Elles inhibent la synthèse protéique (figure 3) en se liant de façon réversible à la sous-unité 30S du ribosome. Cette fixation inhibe celle de l'aminoacyl-ARNt et

bloque l'étape de reconnaissance de la phase d'élongation de la chaîne peptidique (Moellering, 1995 ; Page *et al.*, 1999). Les tétracyclines sont utilisées contre les maladies respiratoires chroniques, la colibacillose, la mycoplasmose (Villate, 1997 ; Mogenet et Fedida, 2004).

V.2.2. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome

VI.2.2.1. Chloramphénicol

Cet antibiotique est très actif pour le traitement de la fièvre typhoïde. En raison de sa toxicité (risque d'aplasie médullaire mortelle), il n'est plus commercialisé et il perturbe la synthèse protéique en inhibant la peptidyl-transférase dans la sous-unité 50S (Nauciel et Vildé, 2008).

Il entraine ainsi un blocage de l'élongation de la chaîne peptidique et donc du cheminement des ribosomes le long de l'ARNm. La libération du polypeptide synthétisé en fin de lecture de l'ARNm est également bloquée (Tortura *et al.*, 2003 ; Neal, 2007).

V.2.2.2. Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)

Les MLS inhibent la synthèse protéique en se fixant sur l'ARN ribosomal 23S de la sous-unité 50S. Ils provoquent la dissociation du peptidyl-ARNt, ce qui inhibe l'étape de transpeptidation des chaînes peptidiques en croissance (Tenson *et al.*, 2003 ; Neal, 2007 ; Nauciel et Vildé, 2008).

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

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

V.2.3. Antibiotique inhibant le facteur d'élongation G

La synthèse protéique serait inhibée par la formation d'un complexe stable avec le facteur d'élongation diphosphate et le ribosome. La phase d'élongation est ainsi bloquée et par voie de conséquence la translocation est arrêtée (Tankovic et Duval, 1997).

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

V.3. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

V.3.1. Sulfamides et triméthoprime

Ces antibiotiques sont des analogues de l'acide para-amino-benzoïque. Ils inhibent la synthèse des folates en inhibant la dihydroptéroate synthétase (figure 4). Le triméthoprime est surtout utilisé en association avec un sulfamide, en agissant à deux niveaux différents de la synthèse des folates (figure 4), ce qui leur assure un effet synergique (Nauciel et Vildé, 2008).

Le triméthoprime inhibe la synthèse des folates en inhibant la dihydrofolate réductase bactérienne, conduisant à l'arrêt de la biosynthèse de l'ADN bactérien (Sköld, 2001 ; Neal, 2007).

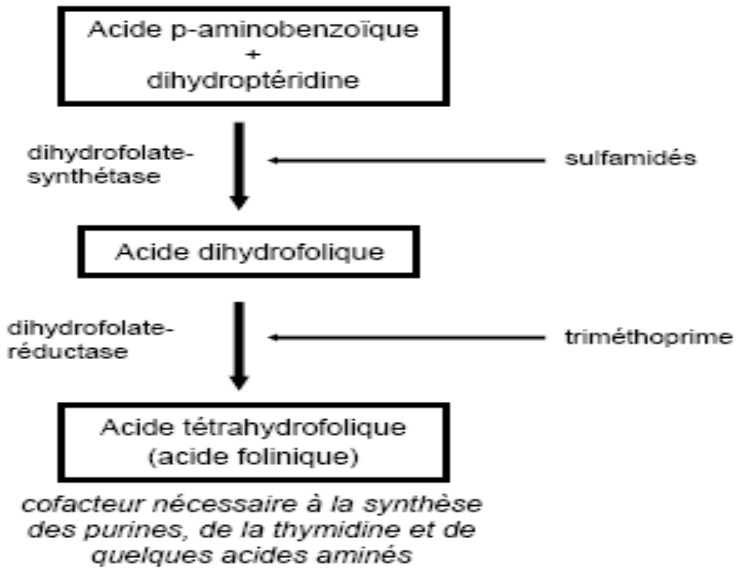


Figure 4 : Action des sulfamides sur les métabolismes intermédiaires (Lavigne, 2007).

V.3.2. Quinolones

Elles inhibent des topoisomérases, enzymes intervenant dans la conformation de l'ADN, et plus particulièrement la topoisomérase II (ou ADN gyrase) et la topoisomérase IV, qui permettent le déroulement local de l'ADN. Elles se fixent sur le complexe formé par la topoisomérase et l'ADN, s'opérant lors de la traduction en ARNm (Higgins *et al.*, 2003 ; Nauciel et Vildé, 2008).

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

V.3.3. Nitrofuranes et Nitro-imidazoles

Ils ont le même mode d'action, leur activité nécessite la réduction du groupement NO_2.

Cette dernière est effectuée au niveau du cytoplasme par des nitro-réductases des bactéries anaérobies et micro-aérophiles, libérant ainsi des radicaux libres toxiques capables d'oxyder l'ADN bactérien et de le couper (Alami *et al.*, 2005 ; Neal, 2007 ; Nauciel et Vildé, 2008).

V.4. Antibiotiques agissant sur les membranes

V.4.1 Les Polymyxines

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

SOUS CHAPITRE 2 : L'ANTIBIORESISTANCE

I. Définition

La résistance à un ATB est considérée comme étant la capacité d'une bactérie de survivre à une concentration définie de cette molécule (Nauciel et Vildé, 2008).

Selon Schwarz et Chaslus-Dancla (2001), une bactérie est considérée comme résistante à un antibiotique quand la concentration de ce dernier au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la multiplication de cette bactérie ou pour la tuer.

Cette définition n'attribue pas la résistance seulement au problème microbiologique, mais aussi aux aspects pharmacodynamiques, pharmacocinétiques et cliniques (Abdennebi, 2006).

II. Historique

Le phénomène des résistances est connu depuis l'apparition du premier antibiotique.

En 1940, avant même que la pénicilline n'ait été largement utilisée en thérapeutique, Abraham et Chain attirent l'attention sur le fait que *Bacterieum coli* inactive la pénicilline G en produisant une enzyme dénommée la pénicillinase (Abraham et Chain, 1940).

Ensuite, chaque fois qu'a été mise au point une nouvelle substance, les bactéries s'y sont adaptées plus ou moins vite.

III. Les différents types de résistance

La résistance aux ATB peut être naturelle ou acquise :

III.1. La résistance naturelle

C'est une insensibilité aux ATB, existant naturellement chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien, et fait partie de son patrimoine génétique (Yalla *et al.*, 2001 ; Courvalin, 2008).

III.2. La résistance acquise

Résistance qui apparaît chez des bactéries jusqu'alors sensibles aux ATB, elle résulte d'une modification du patrimoine génétique chromosomique ou plasmidique. Elle ne concerne

que quelques souches au sein de l'espèce considérée mais peut s'étendre (Alami *et al.*, 2005 ; Courvalin, 2008 ; Lavigne, 2007).

IV. Biochimie de la résistance

IV.1. Résistance croisée

La résistance croisée correspond à la résistance de tous les membres d'une classe d'antibiotiques, due à un seul mécanisme de résistance (Courvalin, 2008).

On peut citer les mutations dans l'ADN gyrase (topoisomérases de type II) et topoisomérase IV au niveau de la région appelée Quinolone Resistance Determining Region (QRDR) des gènes gyrA et parC cibles des quinolones et qui sont composées de 2 fois 2 sous-unités codées respectivement par les gènes gyrA, gyrB et parC, parE qui confèrent la résistance aux fluoroquinolones (Boucheron et *al.*, 2003). Ou la résistance aux 4-6-desoxystreptamines par méthylation de l'ARN 16S (Galimand *et al.*, 2005).

IV.2. Co-résistance

Dans la co-résistance, plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun confère (par résistance croisée) la résistance à une classe d'antibiotiques, ce qui entraîne un large phénotype résistant de la bactérie hôte (Courvalin, 2008).

V. Mécanismes biochimique de la résistance aux antibiotiques

On peut classer les mécanismes de résistance aux antibiotiques en 4 groupes :

V.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

La bactérie résistante produit une enzyme capable d'induire une modification de la molécule d'antibiotique par l'ajout de groupements acétyle, adéninyle ou phosphorique, aboutissant ainsi à son inactivation ou à sa destruction (Abdennebi, 2006 ; Doucet, 2006).

C'est le mécanisme le plus important quantitativement et qualitativement (Alami *et al.*, 2005).

V.1.1. β- lactamases

V.1.1.1. Introduction et historique

Chez les bacilles à Gram négatif (BGN), il existe 3 types de mécanismes de résistance aux β-lactamines : la faible affinité pour les PLP, les phénomènes d'imperméabilité et d'efflux, et surtout l'inactivation enzymatique par les β-lactamases. Les premières β-lactamases (pénicillinases à spectre étroit) plasmidiques (TEM-1/2, SHV-1) ont été initialement décrites dans les années 60 chez *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* et ont très vite diffusées parmi d'autres espèces (entérobactéries) (Bradford, 2001).

Devant l'émergence de ces enzymes, de nouvelles β-lactamines stables (notamment céphalosporines à spectre élargi) ont été développées dans les années 70-80. Cependant, leur utilisation intensive en clinique s'en est suivie par l'apparition précoce de résistance. Ainsi, la première β-lactamase capable d'hydrolyser les céphalosporines à spectre élargi (SHV-2, mutant ponctuel de SHV-1) a été décrite en 1985 dans une souche de *K. pneumoniae* en Allemagne (Bradford, 2001 ; Paterson et Bomono, 2005). Du fait de leur élargissement de spectre d'activité, ces enzymes ont été appelées «β-lactamases à spectre étendu» (BLSE), et à ce jour de nombreuses BLSE (> 230) ont été décrites à travers le Monde représentant un problème majeur de santé publique (Paterson et Bomono, 2005).

V.1.1.2. Définition

Ce sont des enzymes qui inactivent les β-lactamines, par ouverture du noyau β-lactame, elles sont excrétées dans l'espace périplasmique des bactéries à Gram négatif ou dans le milieu de culture des bactéries à Gram positif (figure 5) (Poyart, 2003 ; Nauciel et Vildé, 2008).

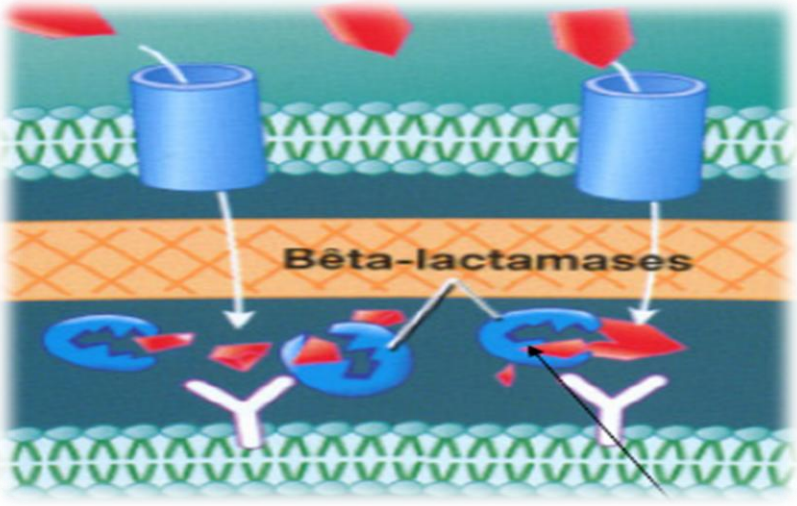


Figure 5 : Inactivation enzymatique des antibiotiques par les β-lactamases (Archambaud, 2009).

Il n'y a pas de consensus de la définition précise de BLSE. Une définition de travail couramment utilisée est que les BLSE sont des β-Lactamases capable de conférer une résistance bactérienne aux pénicillines, et aux céphalosporines de première, de deuxième et de troisième génération, et à aztréonam (mais pas les céphamycines ou carbapénèmes) par l'hydrolyse de ces antibiotiques, et qui sont inhibées par les inhibiteurs de ß-lactamases tels que l'acide clavulanique (Paterson et Bonomo, 2005).

V.1.1.3. Classification

Il existe deux classification très répondues des β-Lactamases : la classification moléculaire Ambler et la classification fonctionnelle de Bush-Jacoby-Medeiros Système (Ambler *et al*., 1991 ; Bush *et al*., 1995 ; Rasmussen *et al*., 1993).

La méthode originale de catégorisation des β-lactamases est la classification d'Ambler qui groupe les enzymes en 4 classes (A, B, C et D) sur la base de la structure moléculaire (Ambler, 1980), et non des caractéristiques phénotypiques. Dans la classification d'Ambler les b-lactamases des classes A, C, et D sont serine b-lactamases. En revanche, les enzymes de la classe B sont des métallo- β –Lactamases (voir figure 6).

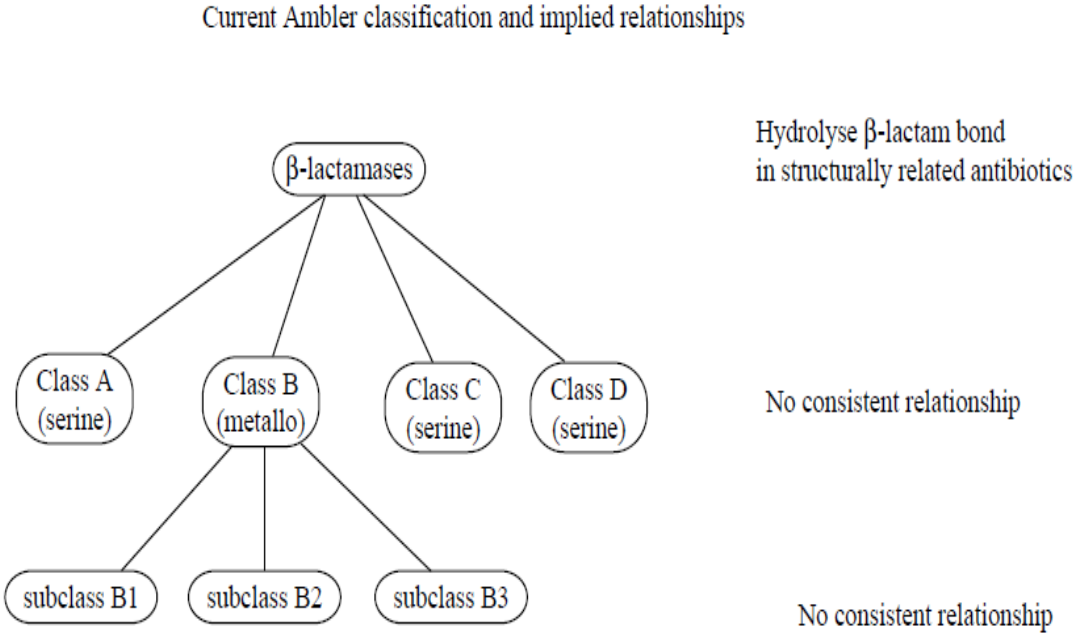


Figure 6: Schéma Ambler de classification des BLSE (Ambler, 1980)

En 1995, Bush *et al* ont mis au point une classification des ß-lactamases en fonction de leurs caractéristiques fonctionnelles et le profil de substrat, une classification qui est largement utilisée voir tableau 4 ci-dessous:

Tableau 4 : Classification de Bush-Jacoby-Meideros des betalactamases (Bush *et al*., 1995).

Bush Jacoby Meideros groupe	**Classe Moléculaire (Ambler)**	**Inhibiteurs betalactamase**	**Enzymes représentatives**	**Sensibilité ou resistance**
1	C	Céphalosporines	Amp-C	Résistante
2b	A	Pénicillines céphalosporines	TEM, SHV	Sensible
2be	A	Pénicillines, Céphalosporines large spectre, Monobactames	TEM , SHV,	Sensible
2d	D	Pénicillines, Cloxacilline	OXA	Résistante
2e	A	Céphalosporines	Céphalosporinase inductible de *Proteus vulgaris*	Sensible
2f	A	Pénicillines, Céphalosporines, Carbapenemes	NMC-A *d'Enterobacter cloacae*	Résistante
3	B	La plupart des betalactamines incluant les Carbapenemes	L1 de *Stenotrophomonas maltophila*	Résistante

Les enzymes sont divisées en trois groupes principaux: céphalosporinases group1 qui ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique, puis le groupe 2, enzymes à large spectre qui sont généralement inhibées par l'acide clavulanique (sauf pour les sous groupes 2d et 2f) et le groupe 3, représenter par les métallo- β- lactamases (Bush *et al*., 1995).

La plupart des BLSE sont affectées au groupe 2be, qui hydrolysent les pénicillines, les céphalosporines et les monobactames et sont inhibées par l'acide clavulanique (selon la classification Ambler) (Malhotra, 2013).

Cette classification est d'une importance beaucoup plus immédiate pour le médecin ou le microbiologiste dans un laboratoire de diagnostic, car elle prend en considération les inhibiteurs des bétalactamases et le substrat B-lactamines qui sont cliniquement pertinentes (Paterson et Bonomo, 2005).

V.1.1.4. Les différents types de BLSE

a- Les anciennes BLSE

a-1. Blse de type TEM (TEMONEIRA nom du patient)

De nombreux dérivés de TEM-1/2 (> 150) ont été décrits à ce jour, dont plus de 100 avec un phénotype de BLSE. Bien que fréquemment retrouvées chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, les BLSE de type TEM ont aussi été rapportées parmi les autres membres de la famille des entérobactéries ainsi que *P. aeruginosa* (Bradford, 2001 ; Paterson et Bomono, 2005). Les mutations responsables de l'élargissement de spectre ont généralement lieu au niveau de 4 «hot spots» de l'enzyme (positions 104, 164, 238 et 240) (Gniadkowski, 2008).

a-2. Blse Type SHV (SULFHYDRYL Variable)

Les BLSE de type SHV ont été détectées parmi de nombreuses entérobactéries (notamment *K. pneumoniae*) mais aussi chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. (Bradford, 2001 ; Paterson et Bomono, 2005). Comme les dérivés de TEM, les mutations dans SHV-1 (68% d'identité avec TEM-1) ont lieu classiquement au niveau de quelques positions (notamment 238 et 240) (Gniadkowski, 2008). Enfin, le gène codant pour SHV-12 a été décrit en association avec le déterminant plasmidique de résistance aux quinolones, QnrB (Canton et al., 2008).

La majorité des dérivés de SHV-1 (> 60) ont un phénotype de BLSE, avec SHV-5 et SHV-12 étant les mutants les plus fréquents en Europe (Canton *et al*., 2008).

b- Les nouvelles Blse

b-1. Blse type CTX-M (CEFOTAXIMASE –Munich)

Ces enzymes «émergentes» pourraient représenter très prochainement les BLSE les plus fréquentes au sein des entérobactéries au niveau mondial après une diffusion rapide depuis le milieu des années 90 (Bradford, 2001 ; Paterson et Bomono, 2005 ; Bonnet, 2004 ; Livermone *et al.,* 2007). Au niveau de leur spectre d'activité, elles hydrolysent préférentiellement le céfotaxime, d'où leur nom de céfotaximases (Bonnet, 2004). En effet, les bactéries productrices de CTX-M sont résistantes au céfotaxime (CMI > 64 µg/mL) et plus ou moins sensibles à la ceftazidime (CMI de 2 à 8 µg/mL), tandis que les CMI de l'aztréonam sont variables (Paterson et Bomono, 2005).

Au niveau structural, les CTX-M ne sont pas proches des β-lactamases de type TEM ou SHV (< 40 % d'identité) (Bonnet, 2004). A ce jour, de nombreux variants de CTX-M ont été décrits (>50), et sont classés en 6 groupes phylogénétiques distincts : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 et CTX-M-45 (Rossolini *et al*., 2008). Les enzymes Toho-1/2, décrites au Japon, sont très proches structuralement des CTX-M et sont donc classées parmi celles-ci (Bonnet, 2004).

b-2. BLSE de type PER (*Pseudomonas* Extended Resistance)

L'enzyme PER-1, initialement découverte en 1993 chez *P. aeruginosa* en Turquie, est fréquente chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. mais a aussi été détectée chez *S. enterica* sérovar Typhimurium, *Providencia* spp., *Proteus mirabilis* et *Alcaligenes faecalis* (Weldhagen *et al*., 2003). En Turquie, une étude récente a montré que 32 % des souches résistantes à la ceftazidime de *P. aeruginosa* et 55 % de celles de *A. baumannii* étaient productrices de PER-1 (Naas *et al*., 2008). Une seconde enzyme, PER-2 (86 % d'identité avec PER-1), a été détectée en 1996 chez *S. enterica* sérovar Typhimurium en Argentine, et depuis chez d'autres entérobactéries, *Vibrio cholerae* et *A. baumannii* (Weldhagen *et al.,* 2003 ; Naas *et al*., 2008).

b-3. BLSE de type VEB (Vietnam Extended-spectrum Beta-lactamase)

L'enzyme VEB-1 (38 % d'identité avec PER-1) a été retrouvée en 1996 dans une souche de *E. coli* isolée chez un patient vietnamien puis chez *P. aeruginosa* en Thaïlande (Weldhagen *et al*., 2003 ; Naas *et al*., 2008). A ce jour, 4 dérivés de VEB-1 ont aussi été décrits (VEB-2 à VEB-5).

b-4. BLSE de type GES (Guyana Extended-Spec trum Beta-lactamase)

Les BLSE de type GES sont de plus en plus rapportées chez les BGN, notamment *P. aeruginosa*, *E. coli* et *K. pneumoniae*. GES-1 a été initialement décrite chez une souche de *K. pneumoniae* isolée en 1998 en France puis en Argentine, au Brésil, au Portugal et aux Pays-Bas. A ce jour, 9 variants différents ont été décrits dont GES-2 en Afrique du Sud, GES-5 à GES-8 (GES-7 = IBC-1 ; GES-8 = IBC-2) en Grèce, GES-3 et GES-4 au Japon, GES-5 en Corée du Sud, en Chine et au Brésil, et GES-9 en France.

Contrairement à la plupart des BLSE, GES-1 n'hydrolyse pas l'aztréonam et surtout GES-2 hydrolyse les carbapénèmes en étant moins sensible aux Inhibiteurs des bétalactamases. Par une unique mutation, GES-2 est le premier exemple de BLSE avec un élargissement du spectre d'activité aux carbapénèmes ; depuis, 4 autres dérivés ont été décrits (GES-4 à GES-6, GES-8) (Naas *et al.,* 2008).

c- **Autres BLSE de classe A**

L'enzyme SFO-1 (*Serratia fonticola*) n'a été détectée qu'une seule fois dans une souche de *E. cloacae* isolée au Japon en 1988 (Naas *et al*., 2008).

L'enzyme BES-1 (Brazilian extended-spectrum β-lactamase) n'a été isolée qu'une seule fois à partir d'une souche de *S. marcescens* au Brésil en 1996 (Naas *et al.,* 2008).

L'enzyme BEL-1 (Belgium extended-spectrum β-lactamase) a été identifiée dans une souche de *P. aeruginosa* en Belgique en 2004. De récents travaux suggèrent que le gène codant pour BEL-1 pourrait disséminer dans les souches de *P. aeruginosa* en Belgique (Naas *et al.,* 2008).

L'enzyme TLA-1 (Tlahuicas - tribu indienne) a été décrite dans une souche de *E. coli* isolée au Mexique en 1993. Depuis, plusieurs cas de bactériémies et d'infections urinaires nosocomiales dues à une souche de *K. pneumoniae* produisant à la fois SHV-5 et TLA-1 ont été rapportés au Mexique. A noter que TLA-1 n'a été identifié qu'au Mexique (Naas *et al.*, 2008).

Le gène codant l'enzyme TLA-2 est porté par un plasmide de 47 kb (pRSB101) isolé à partir d'eaux usées de traitement de plantes en Allemagne en 2002. 208 MAPAR 2008 Cependant, l'espèce hébergeant ce déterminant n'a pas pu être identifié et aucune souche TLA-2-positive n'a été décrite à ce jour (Naas *et al.,* 2008).

d. BLSE de type OXA (Oxacillinase)

Bien que les BLSE appartiennent souvent à la classe A, plusieurs oxacillinases (classe D et classe 2d) ont des propriétés de BLSE (Bradford, 2001 ; Paterson et Bomono, 2005 ; Livermone, 2008). Les β-lactamases de type OXA confèrent la résistance à l'ampicilline et à la céfalotine, et sont caractérisées par une forte activité hydrolytique des pénicillines M (oxacilline, cloxacilline).

De plus, elles sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique (Paterson et Bomono, 2005). La plupart des β-lactamases de type OXA n'hydrolysent pas de façon significative les C3G/C4G mais l'évolution par mutation(s) ponctuelle(s) vers un élargissement du spectre a dû avoir lieu comme pour les dérivés de TEM/SHV (Naas *et al*., 2008).

Les β-lactamases de type OXA représentent une famille phylogénétiquement très hétérogène et les BLSE de type OXA dérivent de OXA-10, de OXA-13, de OXA-2 ou sont non reliées (OXA-18, OXA-45) (Paterson et Bomono, 2005 ; Naas *et al*., 2008).

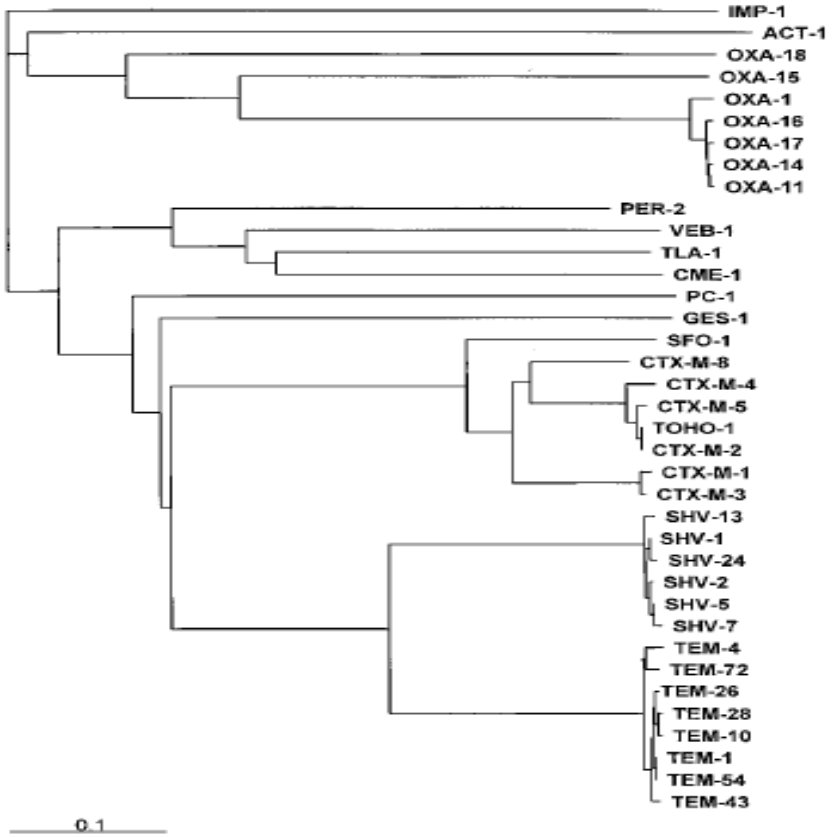


Figure 7: Phylogénie de BLSE. Des séquences représentatives de diverses BLSE ont été obtenues à partir de GenBank (Bradford, 2001).

V.1.2. Enzymes inactivant les aminosides, le chloramphénicol et les macrolides

On connaît 3 classes d'enzymes pouvant inactiver les aminosides : les acétyl-transférases, les nucléotidyl-transférases et les phosphotransférases. Le chloramphénicol peut être inactivé par une chloramphénicol-acétyltransférase. Diverses enzymes peuvent aussi inactiver les macrolides (Nauciel et Vildé, 2008). Le chloramphénicol et les aminosides sont inactivés dans le cytoplasme

de la bactérie par des enzymes qui demeurent intracellulaires. Les gènes codant ces enzymes sont le plus souvent plasmidiques (Poyart, 2003).

V.2. Modification de la cible

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

V.2.1. Modification des PLP

La résistance par modification de PLP, par exemple, est due à la présence d'une PLP ayant une très faible affinité pour les β-lactamines. Cette nouvelle PLP est due à l'acquisition d'un gène chromosomique appelé *mecA* ou à l'acquisition de fragments d'ADN étranger au niveau des gènes des PLP, donnant naissance à des gènes mosaïques (Alami *et al.,* 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008).

V.2.2. Modifications du précurseur du peptidoglycane

Un groupement lactate qui remplace le D-Ala terminale sur le précurseur du peptidoglycane entraine une résistance aux glycopeptides chez les entérocoques, l'affinité des glycopeptides pour la séquence D-Ala-D-lactate est en effet beaucoup plus faible que par la séquence habituelle D-Ala-D-Ala (Alami *et al.,* 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008).

V.2.3. Modifications du ribosome

Au niveau de l'ARN ribosomal 23 S la méthylation d'une adénine entraine la resistance aux macrolides, aux lincosamides et à la streptogrammine B (résistance dite MLSB) empêchant ainsi leur fixation sur le ribosome. La méthylase impliquée est codée par un gène appelé erm (erythromycin resistance methylase) il en existe différentes variétés (Alami *et al*., 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008).

V.2.4. Modifications des topoisomérases

Des mutations au niveau des gènes de la gyrase (gyrA et rarement gyrB) entrainent des

degrés divers de résistance aux quinolones, des mutations successives au niveau de ces gènes entraine des résistances par paliers (Alami *et al*., 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008).

V.2.5. Modifications de l'ARN-polymérase

Une mutation portant sur la chaine β de l'ARN-polymérase entraine la resistance aux rifamycines, cette mutation est de fréquence très élevée, il est déconseillé d'utiliser cette famille en monothérapie (Alami *et al.,* 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008).

V.2.6. Modifications des enzymes impliquées dans la synthèse des folates

Une diminution de l'affinité pour les sulfamides est due à des modifications de la dihydroptérate synthétase entrainant ainsi une résistance à ces produits. De même des modifications de la dihydrofolate réductase peuvent entrainer une résistance au triméthoprime (Alami *et al.,* 2005 ;; Nauciel et Vildé, 2008).

V.2.7. Modifications du facteur d'élongation G

Les mutations responsables de ce phénomène sont fréquentes, elles entrainent une résistance à l'acide fusidique d'ou il est interdit en monothérapie (Alami *et al.,* 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008).

V.3. Diminution de la perméabilité

Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif et permettant le passage de certaines molécules hydrophiles (Nauciel et Vildé, 2008).

Des mutations peuvent entraîner la perte de certaines porines ou les altérer et de ce fait entraver la pénétration de l'ATB. Ces mutations peuvent entraîner la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques simultanément : β-lactamines, aminosides, et quinolones (Pages, 2004 ; Denyer et Maillard, 2002 ; Nauciel et Vildé, 2008).

V.4. Excrétion de l'antibiotique par efflux

Il existe chez les bactéries des systèmes permettant la non-accumulation à l'intérieur de la bactérie : c'est l'excrétion ou efflux actif (Alami *et al.,* 2005).

L'efflux actif est un mécanisme de transport membranaire nécessitant de l'énergie qui pompe l'antibiotique de l'intérieur vers l'extérieur plus vite qu'il ne rentre (figure 8). Les ATB exerçant leur action sur des cibles cytoplasmique seront les plus touchés (Croize, 2005).

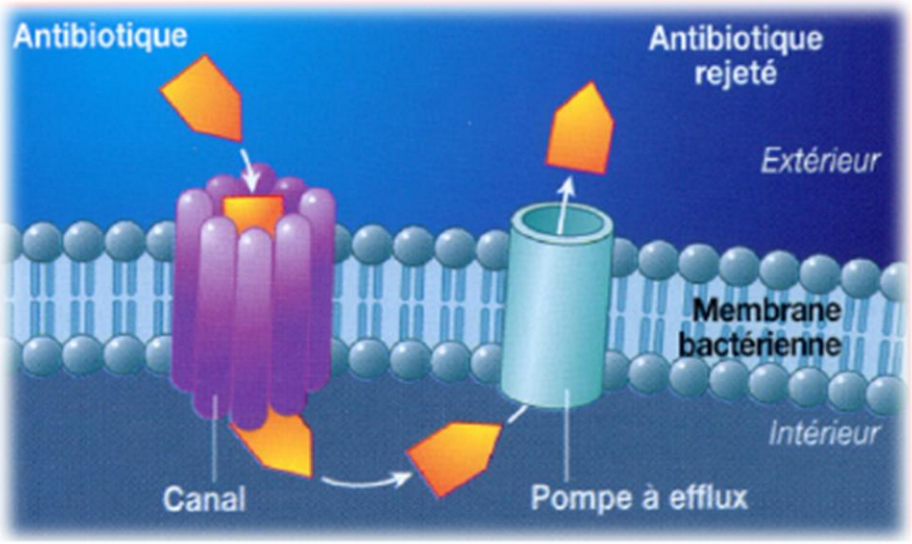


Figure 8 : Excrétion de l'antibiotique par efflux actif (Archambaud, 2009).

VI. Mécanisme génétique de la résistance

La résistance peut être acquise par deux voies totalement distinctes (Courvalin, 2008) :

- Mutations dans le génome. On parlera alors de transmission verticale à la descendance ;
- Acquisition d'information génétique étrangère, en provenance d'autres bactéries, par transfert horizontal.

VII. Conséquence de la résistance aux antibiotiques

On considère que pour de nombreux agents pathogènes pour l'homme et l'animal, le développement de la résistance est dû à l'usage médical des antibiotiques (Sanders, 2005).

C'est le résultat de la *pression de sélection* des antibiotiques. En effet, l'administration d'un antibiotique chez un individu entraîne la disparition des bactéries sensibles et favorise de ce fait la prolifération des bactéries ayant acquis des gènes de résistance (Alami *et al*., 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008).

Cette résistance a des conséquences médiates et immédiates :

- *L'échec thérapeutique* est la conséquence pratique majeure de l'antibiorésistance chez l'animal dû à la résistance des bactéries pathogènes (Sanders, 2005 ; Abdennebi, 2006) ;

- *Diffusion de la résistance.* Chez les bactéries, les gènes de résistance sont transmis à la descendance par transmission verticale ou horizontale (Nauciel et Vildé, 2008) ;

- *L'apparition de souches multi-résistantes aux antibiotiques* chez des bactéries pathogènes pour l'animal peut devenir un problème de santé publique, car elles peuvent ensuite être transmises à la population humaine (Sanders, 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008) ;

- *Apparition de souches de bactéries transmises par les aliments* et résistantes aux antimicrobiens et qui peuvent causer des infections au sein de groupes de populations sensibles (Abdennebi, 2006).

.

I. Objectifs

Devant la rareté de données épidémiologiques qui autorisent une étude de la résistance microbienne des isolats *d'E. coli* à plusieurs antibiotiques, le choix de ces derniers est tout à fait arbitraire. Cela mène à un usage intensif et anarchique des antibiotiques, qui se traduit par l'inefficacité des traitements et l'apparition de souches multi-résistantes.
Rappelons que les objectifs de l'étude consistent à :

- Estimer la prévalence d'une des pathologies dominantes en élevage avicole « la colibacillose aviaire »;

- Mettre l'accent sur les principales lésions macroscopiques de la colibacillose, éventuellement rencontrées chez les sujets suspects atteints : aérosacculite, péricardite, périhépatite, lésions pathognomoniques (forme respiratoire), ou même de la congestion généralisée des organes et de la carcasse (colisepticèmie); et ceci par le biais d'un examen nécropsique approfondi ;

- Isoler et identifier l'agent étiologique « *Escherichia coli* » suite à une analyse bactériologique du foie et de la rate « organes filtres concentrant le germe » de sujets autopsiés présentant une des manifestations lésionnelles citées précédemment;

- Rechercher la présence éventuelle d'antigènes de virulence les plus reconnus chez les APEC (O1, O2 et O78) par le moyen d'une technique de sérotypie.

- Déterminer la sensibilité de ces souches vis-à-vis de douze molécules, utilisées aussi bien en médecine vétérinaire qu'humaine ;

- Rechercher les souches multiresistantes et étudier le profil de résistance (antibiotype) de ces isolats d'*E. coli* en mettant l'accent sur le risque de transmission à l'Homme ;

- Détecter parmi ces souches celles dites rebelles c'est-à-dire *E. coli* productrices de β-lactamase à spectre élargi (BLSE);

- La caractérisation moléculaire des souches productrices de β-lactamase à spectre élargi (BLSE) par PCR afin identifier les différentes gènes de résistances de nos souches.

II. Lieu et période de l'étude

L'étude s'étend sur une période de trois ans, de janvier 2013 à mars 2016. Elle est menée dans la région Est et centre d'Algérie. Les sujets sont prélevés aux niveaux de trois abattoirs

avicoles : un étatique de la wilaya de Sétif (société des abattoirs de l'est), et deux privés : Sarl Akfa Volaille à El Hamiz Alger et Ets Tekli à Bordj Menaïel Boumerdes.

L'origine des sujets sont les centres de production de poulet de chair (GAE, anciennement ORAVIE, Office Régional Avicole Est), et des élevages privés dans le cadre de la triangulaire et d'autres élevages privés. Quarante sept élevages de poulets de chair de type industriel âgés de 6 à 9 semaines et quatre élevages de Dinde chair âgés enter 4 et 6 mois (capacité d'environ cent cinquante mille sujets) ont été choisis (2 à 5 sujets prélevés par élevages lorsque effectif < 5000).

Les échantillons ont été prélevés au hasard à partir des poulets et dindes chair cliniquement affectés de colibacillose et montrant des lésions caractéristiques à l'examen nécropsie. Un total de 236 sujets ont été recueillis.

C'est élevage sont répartis dans dix wilayas de l'Est et le centre d'Algérie voir tableau 5 :

Tableau 5 : Localisation des différents élevages concernés par l'étude.

Wilaya	Daïra	Nombre élevages	Sujets prélevés	Total
Batna	Merouana	2	7	7
Constantine	Hamma Bouziane	3	15	15
Annaba	El Karma el Hadjar	3	15	22
	Sidi Salem el Bouni	2	7	
Mila	Chelghoum Laid	9	43	61
	Tadjenanet	3	13	
	Ouled khelouf	1	5	
Sétif	Boussellem	1	5	81
	Bellaa	1	2	
	Taya	1	5	
	Ain Arnat	3	11	
	Bir Haddada	1	5	
	Ras El Ma	5	26	
	Djemila	6	25	
	Tachouda el Eulma	1	2	
Boumerdes	Bordj Menaïel	3	28	28
Tizi Ouzou	Ait Yahia	1	2	9
	Boudjima	1	3	
	Tizi Ouzou	1	4	
Bejaia	Bejaia	1	5	5
Skikda	Ben Azzouz	1	5	5
Bouira	Bouira	1	3	3
10 Wilayas	**22 Communes**	**51 élevages**	**236 Prélèvements**	**236**

III. Matériel et méthodes

III.1. Matériel

III.1.1. Echantillonnage et prélèvement

Les échantillons prélevés sont ciblés (2 à 5 sujets par élevages effectif < 5000 sujets) sur la chaîne d'abattage, à partir des poulets de chair et dinde présentant un retard de croissance ou la congestion généralisée de la carcasse et des organes, et des lésions pathognomoniques de la colibacillose à l'examen nécropsique : aérosacculite, péricardite et/ou périhépatite.

Les autopsies sont effectuées au niveau du laboratoire de l'abattoir de Sétif pour les sujets prélevés dans la région Est D'Algérie et la clinique de pathologie aviaire de ENSV pour les sujets prélevés dans la région centre d'Algérie, puis les organes (foies et rates) sont prélevés stérilement (figure 9) mis dans des pots stériles et sont acheminés, dans une glacière sous couvert de froid positif à + 4°C, aux laboratoires : laboratoire central du CHU de Sétif (Laboratoire de microbiologie) et à laboratoire HIDAOA de ENSV pour les examens bactériologiques**.**

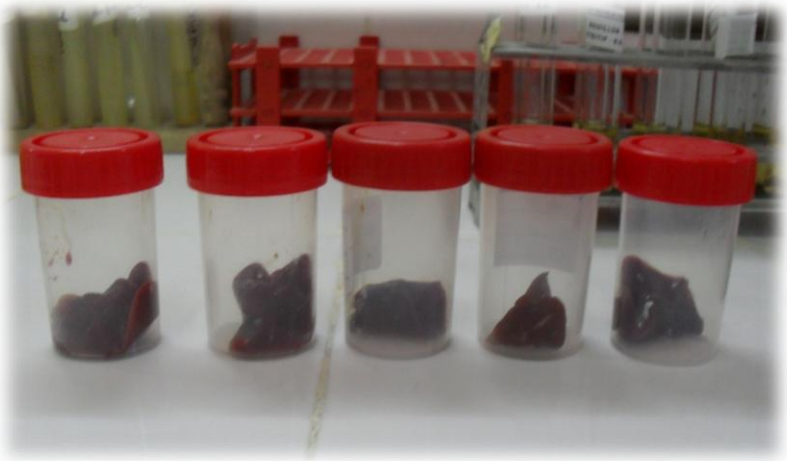


Figure 9 : Prélèvements d'organes dans les pots stériles (Photo personnelle).

III.1.2. Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés lors de notre expérimentation sont les suivant (voir annexe II) :

- BHIB (Brain Heart Infusion Broth) et bouillon nutritif (BN) sont des milieux d'enrichissement pour les *E. coli,* Institut Pasteur d'Algérie ;
- Gélose nutritive, milieu convenant à la culture des bactéries ne présentant pas d'exigences particulières, Idéal Labo, Algérie ;

- Gélose Mac Conkey, et gélose Hektoën milieux sélectifs d'isolement des entérobactéries (bactéries lactose +), IPA, Algérie ;
- Gélose TSA trypto-caséine soja isolement des *E.coli* pour le sérogroupage (Labodib, Algérie) ;
- Milieu TSI (Triple Sugar Iron), milieu d'identification biochimique, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Milieu Urée-Indole, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Milieu Mueller Hinton utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Pour l'identification biochimique, nous utilisons la galerie API 20 E, BioMérieux, France.
- Milieu de conservation (IPA, Algérie).

III.1.3. Produits de laboratoire

Les produits de laboratoire et réactifs utilisés sont les suivants (voir annexe II) :

- Colorants : violet de gentiane, fushine de Ziehl, lugol ;
- Eau oxygénée 10 volumes ;
- Alcool 70° ;
- Eau physiologique stérile 0,9% ;
- Huile de vaseline stérile, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Papier filtre ;
- Ampoules d'oxydase, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Réactif Kovac's, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Réactif VP1, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Réactif VP2, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Réactif TDA (Tryptophane Désaminase), Institut Pasteur d'Algérie ;
- Ecouvillons stériles;
- Disques d'antibiotiques présentés dans la figure 10.

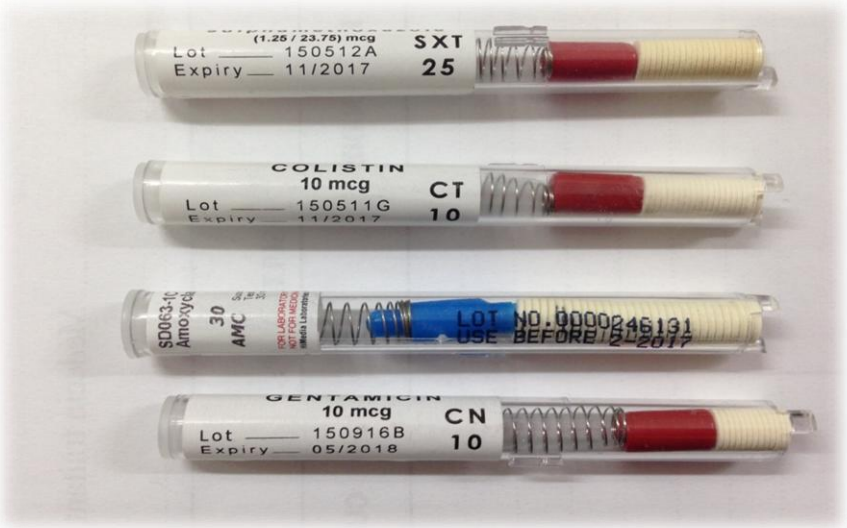


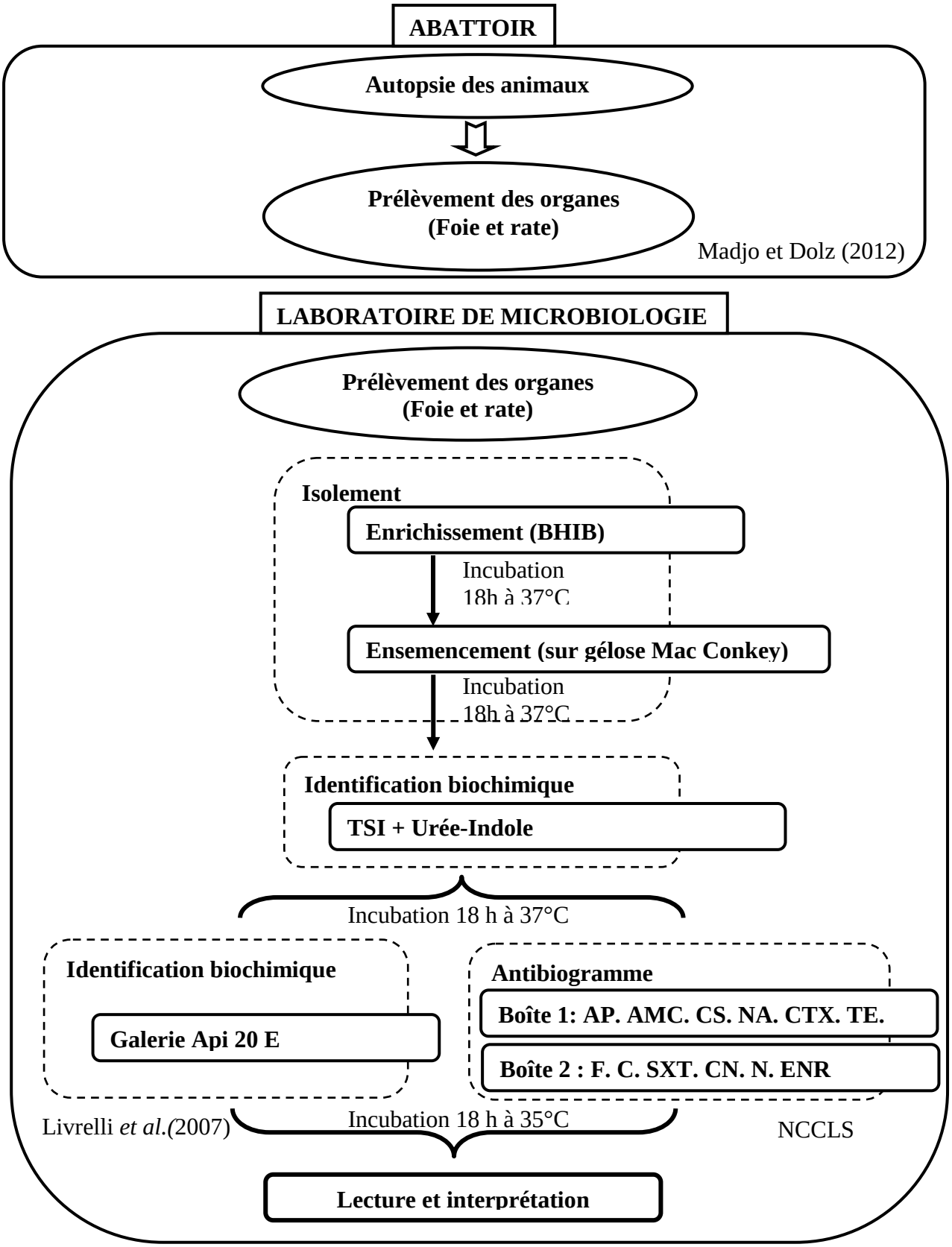
Figure 10 : Tubes de disques imprégnés d'antibiotiques pour antibiogramme (Photo personnelle).

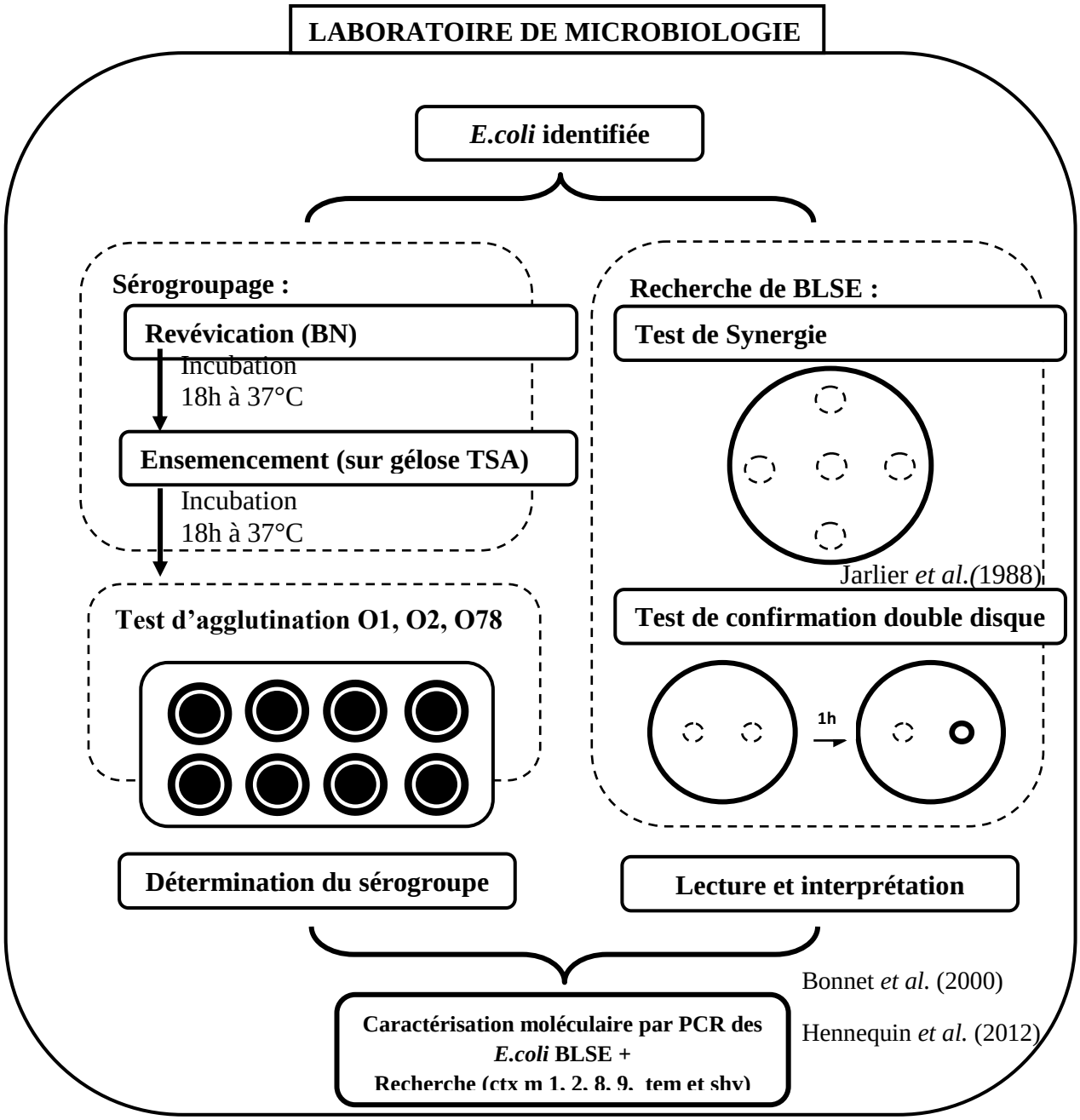
III.2. Méthodes

III.2.1. Conduite expérimentale

Les différentes étapes de l'expérimentation sont regroupées dans le schéma suivant :

SCHEMA EXPERIMENTAL





III.2.2. Autopsie

L'autopsie est un temps essentiel du diagnostic en pathologie aviaire, elle doit être systématique, ordonnée et complète, 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 (Majó et Dolz, 2012) :

a. Examen externe de l'animal et prélevements in vivo ;

b. Préparation de la carcasse et ouverture de la cavité thoraco-abdominale ;

c. Eviscération ;

d. Etude et examen des organes internes ;

e. Etude de la tête : Examen de la cavité nasale et de l'encéphale ;

f. Etude de l'appareil locomoteur : Examen des nerfs, des articulations, des os et des muscles.

III.2.3. Bactériologie

L'isolement et l'identification d'*E. coli* sont réalisés selon le protocole préconisé par Livrelli *et al.* (2007).

III.2.3.1. Isolement des *Escherichia coli*

Au laboratoire de microbiologie, la surface de l'organe est flambée puis l'organe est coupé stérilement en de petits dés à l'aide d'une pince et de ciseaux stériles (figure 11).

Figure 11 : Découpage des organes en de p'tit dés (Photo personelle).

III.2.3.1.1. Enrichissement

Le milieu d'enrichissement, tube de BHIB, est ensemencé par l'introduction des petits dés d'organes à l'intérieur du tube puis incubé 18 à 24 h à 37°C (figure 12).

III.2.3.1.2. Ensemencement

On procède à l'ensemencement par la technique d'épuisement, à partir du tube BHIB contenant les organes et incubé la veille. Une goutte de BHIB est ensemencée sur la gélose Mac conkey, puis une deuxième incubation est pratiquée pendant 18 à 24 h à 37°C.

Figure 12: Tubes de BHIB ensemencés par les organes coupés en p'tit dés (Photo personelle).

III.2.3.2. Identification des *Escherichia coli*

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 suivantes :

III.2.3.2.1. Identification morphologique

a) Sur le plan macroscopique

Elle repose sur l'observation de colonies rondes et bombées, brillantes à bord net, de 2 à 3 mm de diamètre, de couleur rose clair (lactose +) et entourées d'un halo opaque dû à la précipitation de sels biliaires sur la gélose Mac Conkey (figure 13), et des colonies rondes et bombées, brillantes à bord net, de 2 à 3 mm de diamètre, de couleur jaune saumon (lactose +) sur la gelose Hektoën (figure 14) :

b) Sur le plan microscopique

Le procédé de coloration différentielle de Gram divise les bactéries en deux classes : Gram négatif et Gram positif. Dans une première étape, le frottis est coloré avec le cristal violet (colorant basique) pendant 1 mn.

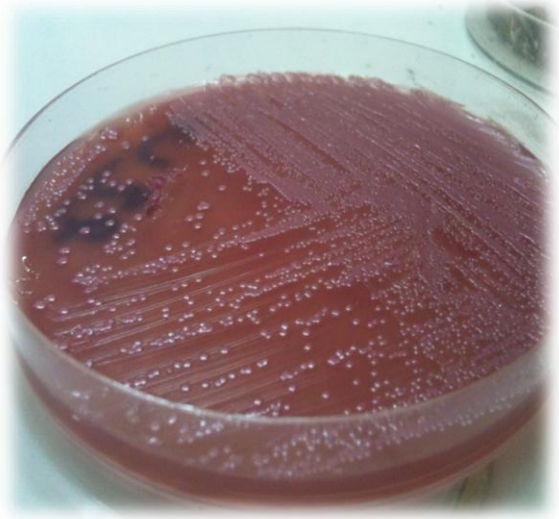


Figure 13 : Colonies d' *E.coli* sur gélose Mac conkey (Photo personnelle)

Figure 14 : Colonies d'*E.coli* sur gélose Hektoën (Photo personnelle).

Ensuite la préparation est traitée par une solution d'iode (lugol) pendant 1 mn. Ce dernier augmente les intéractions entre la cellule et le colorant pour que la cellule soit plus fortement contrastée. Le frottis est alors décoloré par l'alcool pendant 30 secondes. Cette étape engendre l'aspect différentiel de la coloration de Gram. Les bactéries Gram positif gardent le cristal violet tandis que les bactéries Gram négatif le perdent et se décolorent. Enfin, le frottis est contre-coloré à l'aide d'un colorant basique de couleur différente : la fushine (pendant 50 secondes) colore les bactéries Gram négatif en rose et laisse les bactéries Gram positif colorées en violet foncé.

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

III.2.3.2.2. Identification biochimique

III.2.3.2.2.1. Catalase

Cette enzyme est utilisée en bactériologie pour l'identification des bactéries. La plupart des bactéries à Gram négatif possèdent une catalase. La recherche de la catalase sur ce type de bactéries ne possède pas d'intérêt.

Pour les bactéries à Gram positif, la recherche de cette enzyme permet de différencier les *Staphylococcus* et les *Micrococcus* (généralement catalase +) des *Enterococcus* et des *Streptococcus* (catalase –).

Il s'agit de déposer, sur une lame de verre propre, une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2), puis de mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette Pasteur ou une anse plastique à usage unique.

S'il y a formation de bulles figure 15, la bactérie possède la catalase. L'effervescence est due au dégagement de dioxyde. Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme.

Figure 15 : Mise en évidence de la catalase chez *E.coli* (Photo personnelle).

III.2.3.2.2.2. Oxydase

La recherche d'oxydase est un test fondamental pour orienter l'identification des bacilles à Gram négatif. On utilise comme réactif le chlorhydrate. Des ampoules d'oxydase imprègnent le papier filtre de ce réactif. Sur une lame, on dépose une colonie avec une pipette Pasteur. S'il y a apparition d'une tache violette au bout de 30 secondes, on conclut que la bactérie est oxydase + et qu'elle possède le cytochrome oxydase. S'il n'y a rien qui apparaît, la bactérie est oxydase – et ne possède donc pas l'enzyme respiratoire.

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

Les colonies qui sont Gram –, catalase + et oxydase – seront identifiées à l'aide de TSI (Triple Sugar Iron) et Urée-indole.

III.2.3.2.2.3. Test des 3 sucres (TSI)

Certaines espèces bactériennes peuvent être identifiées grâce à ce test voir figure 16.

Un tube de milieu TSI (Triple Sugar Iron) (figure) est ensemencé avec la souche à étudier (en stries centrales sur la pente puis en piqûre profonde dans le culot) et incubé 18 heures à 37°C. Ce test permet la mise en évidence de la fermentation du glucose (virage au jaune au niveau du culot), du lactose (coloration jaunâtre au niveau de la pente) et du saccharose (coloration jaunâtre au niveau de la zone intermédiaire), avec ou sans dégagement de gaz.

La production d'H_2S, qui colore le milieu en noir, est due à la formation de sulfure de fer :

Pente
- Virage au jaune → lactose +
- Couleur reste rouge → lactose –

Intermédiaire
- Virage au jaune → saccharose +
- Couleur reste rouge → saccharose –

Culot
- Virage au jaune → glucose +
- Couleur reste rouge → glucose –

Noircissement du milieu → production d'H_2S

Formation de bulles → production de gaz

Figure 16: *E.coli* et autres entérobactéries sur milieu TSI (photo personelles).

III.2.3.2.2.4. Test de l'uréase

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

$$NH_2 + COOH^- \longrightarrow CO_2 + NH_3$$

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 17), 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

III.2.3.2.2.5. Test de l'indole

Il permet de savoir si un organisme peut produire de l'indole à partir de tryptophane grâce à une tryptophanase (figure 17).

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

Figure 17: Milieu urée-indole, tube de gauche (urée- indole+)
tube de droite urée+ (Photo personnelle).

Les colonies qui présentent les caractères enumérés dans le tableau 6 seront identifiées à l'aide d'un galerie API 20E, galerie biochimique qui comprend 20 caractères différents.

Tableau 6 : Caractères biochimiques recherchés par les milieux TSI et Urée-Indole

Milieu	**TSI**					**Urée-Indole**	
Test	Glucose	Saccharose	Lactose	H_2S	Gaz	Urée	Indole
Résultat	+	+	+	–	+	–	+

III.2.3.2.3. Identification biochimique par API 20 E

a) **Principe**

La galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue le test indiqué par un sigle au-dessus du microtube.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanément ou révélés par l'addition de réactifs (figure 09). La galerie 20 E permet d'identifier les caractères suivants :

1) Test de la β-galactosidase (ONPG)

Pour que le lactose soit utilisé par les bactéries, il doit être scindé par des enzymes intracellulaires, les bêta-galactosidases. Ces enzymes sont spécifiques de la liaison bêta-1,4-osidique et elles hydrolysent le lactose en glucose et galactose.

Pour qu'une bactérie utilise le lactose, il faut que le lactose puisse pénétrer dans la cellule. Cette pénétration nécessite une autre enzyme, la bêta-galactoside perméase. Si cette enzyme est déficiente ou absente, une bactérie potentiellement capable d'utiliser le lactose (possédant une bêta-galactosidase) ne pourra exprimer ce caractère et paraîtra lactose négatif.

Le but de ce test est d'étudier l'existence d'une galactosidase chez le germe, donc la possibilité de la fermentation effective du lactose, indépendamment de la perméase bactérienne, à l'intérieur de la cellule, l'ONPG (Ortho-Nitro-Phényl Galactoside) est scindé par la galactosidase en galactose et en orthonitrophénol de coloration jaune.

Dans un tube contenant 1 ml d'eau physiologique, on réalise une suspension bactérienne, à partir d'une gélose nutritive (bactéries jeunes), puis on ajoute un disque d'ONPG et on incube à 37°C pendant 18-24 heures. La réaction positive se traduit par une coloration jaune citron due à la libération d'orthonitrophénol.

Sur la plaque API 20 E, le microtube contient un substrat d'ONPG, donc on inocule seulement la suspension bactérienne.

Toutes les bactéries possédant une bêta-galactosidase présentent un test ONPG positif. Cependant, certaines bactéries dépourvues de bêta-galactosidase peuvent hydrolyser l'ONPG grâce à une autre enzyme appelée ONPGase. La dénomination de "test ONPG" est donc plus correcte que la dénomination de "recherche de la bêta-galactosidase".

2) Test de lysine décarboxylase (LDC), ornithine décarboxylase (ODC) et de l'arginine dihydrolase (ADH)

La décarboxylation de la lysine produit de la cadavérine. La L-ornithine est décarboxylée en putrescine et l'arginine est décarboxylée en agmatine puis hydrolysée en putrescine.

La recherche de ces enzymes, dont l'action est favorisée en milieu acide, et qui forment des substances alcalines à partir des acides aminés, n'est effectuée que pour des bactéries à métabolisme fermentatif. Cette activité décarboxylasique peut servir à distinguer divers sérotypes de *Salmonella* et à identifier d'autres membres de la famille des *Enterobacteriaceae*.

Dans un premier temps, l'acidification du milieu, due à l'utilisation du glucose, entraîne une coloration jaune, puis, si l'un des acides aminés est utilisé, l'ammoniac ainsi formé alcalinise le milieu, d'où apparition d'une coloration rouge (rouge de phénol).

Remarque : Dans la galerie API 20 E, un tampon acide remplace l'acidification due à la fermentation du glucose, d'où une sensibilité plus grande.

3) Test du citrate (CIT)

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 une citrate perméase et les enzymes du catabolisme du citrate.

De telles bactéries sont capables de croître sur un milieu synthétique, le milieu au citrate de Simmons, dont 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 un 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.

4) Test de la production d'hydrogène sulfuré (H_2S)

L'hydrogène sulfuré peut être formé par le métabolisme des acides aminés soufrés (méthionine, cystéine, cystine) ou par la réduction de composés oxydés du soufre comme le thiosulfate. Seule la réduction du thiosulfate est envisagée ci-dessous.

La réduction du thiosulfate par une thiosulfate réductase conduit à la formation de sulfate et d'hydrogène sulfuré. En présence de sulfate de fer, l'hydrogène sulfuré donne un précipité noir de sulfure de fer.

5) Test de l'urée (URE)

Le principe de ce test est illustré précédemment. Sur la plaque API 20 E, on inocule seulement la suspension bactérienne dans le microtube (URE).

6) Test de la Tryptophane désaminase (TDA)

La tryptophane désaminase désamine le tryptophane pour donner de l'acide indole-pyruvique dans le milieu urée-indole. En présence de perchlorure de fer (réactif TDA) et en milieu acide, l'acide indole-pyruvique donne un composé de couleur brun foncé, presque noire.

Remarque : Dans une galerie API 20 E, le milieu urée-indole est remplacé par de l'eau peptonée enrichie en tryptophane.

7) Test de l'indole (IND)

Le principe de ce test est expliqué précédemment. Sur la plaque API 20 E, on inocule seulement le microtube (IND) par la suspension bactérienne.

Remarque : Dans une galerie API 20 E, le milieu urée-indole est remplacé par de l'eau peptonée enrichie en tryptophane.

8) Test de Voges-Proskauer (VP)

Les réactions de Voges-Proskauer (VP) permettent l'étude des dérivés de l'acide pyruvique.

Le glucose, utilisé par les bactéries, est dégradé en acide pyruvique qui est un intermédiaire clef du métabolisme des glucides. Selon les bactéries, l'acide pyruvique peut être complètement oxydé ou être le point de départ de diverses voies fermentaires conduisant à une très grande variété de composants finaux dont la nature est caractéristique du type fermentaire :

La fermentation acide mixte conduit à la production d'acide formique, d'acide acétique, d'acide lactique, d'acide propionique, d'acide succinique, de dioxyde de carbone, d'hydrogène, d'éthanol, etc. La fermentation acide mixte provoque une acidification importante d'un milieu glucosé.

Le test VP permet de caractériser l'acétoïne sur le milieu Clark et Lubs. En présence d'oxygène et d'une base forte (soude 4M ou potasse 4M), l'acétoïne est oxydée en diacétyle qui forme un complexe coloré en rose en réagissant avec une fonction amine d'un groupement guanidyle des protéines. La réaction est plus sensible et plus rapide en présence d'alpha-naphtol.

Remarque : Le milieu utilisé dans une galerie API 20E est un milieu de Clark et Lubs modifié dans lequel le glucose est remplacé par de l'acide pyruvique, ce qui permet de lire le test après 24 heures d'incubation.

9) Test de diffusion du pigment noir (GEL)

La technique rapide gélatinase de Kohn-Lautrop consiste à faire attaquer par la bactérie à étudier un fragment de gélatine dans lequel on a préalablement inclus du charbon de bois finement pulvérisé (gélatine dénaturée au charbon). La gélatinase, éventuellement produite par le germe, désagrège la gélatine et libère le charbon de bois qui diffuse dans tout le milieu.

L'hydrolyse de la gélatine se traduit par la libération de particules de charbon de bois qui colorent le milieu en noir.

Pour les neuf tests restants de la galerie, ils concernent l'étude de l'acidification des glucides et dérivés. Ces tests recherchent la capacité d'un germe à utiliser, par voie oxydative ou fermentative, un substrat carboné, avec production de métabolites acides (production faible pour les bactéries à métabolisme oxydatif, production importante pour les bactéries à métabolisme fermentatif).

Oses : arabinose (ARA), glucose (GLU).
Dérivés des oses : amygdaline (AMY), mannitol (MAN), rhamnose (RHA), sorbitol (SOR).
Diholosides : mélibiose (MEL), saccharose (SAC).
Molécule organique cyclique : inositol (INO).

L'utilisation du substrat carboné conduit à une acidification du milieu, révélée par un indicateur de pH, le bleu de bromothymol.

La fermentation commence dans la partie inférieure du tube, l'oxydation débute dans la partie supérieure.

b. Mode opératoire

b-1. Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;
- Sortir la galerie de son emballage ;
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

b-2. Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ;
- Prélever une seule colonie bien isolée sur le milieu gélosé, en utilisant des cultures jeunes de 18-24 h à l'aide d'une pipette Pasteur ;
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

b-3. Inoculation de la galerie

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le coté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant :

- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule ;

- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non pas les cupules) ;

- Pour les tests ADH, LDC, ODC, H_2S et URE, créer une anaérobiose en remplissant les cupules d'huile de paraffine stérile.

- Refermer la boîte d'incubation ;
- Incuber à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

c. Lecture de la galerie

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (voir annexe III) après addition des réactifs suivants (figure18) :

❖ Une goutte de réactif TDA au test TDA ;

❖ Une goutte de réactif James au test IND ;

❖ Une goutte de réactif VP1 et VP2, et attendre au minimum 10 mn, au test VP.

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

d. Interprétation de la galerie

L'identification est obtenue à partir du profil numérique qui est déterminé sur la fiche de résultats. Les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres.

La réaction d'oxydase, qui constitue le 21^{éme} test, est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive. Alors l'identification est faite à l'aide de :

✓ Logiciel d'identification Apiweb™, en entrant manuellement le profil à 7 chiffres dans notre cas la version du logiciel est Apiweb™ (API 20 E V4.1).

III.2.4. Tests de caractérisation sérologiques des bactéries ou la sérotypie par la méthode d'agglutination rapide sur lame

III.2.4.1. Principe

Réactif à base d'anticorps spécifiques de la bactérie à caractériser liés à des particules, lorsqu'une colonie fraîche de la bactérie est mélangée au réactif correspondant, les anticorps spécifiques du réactif se fixent sur les antigènes de la bactérie et forment des agglutinats visibles à l'œil nu.

III.2.4.2. Composition

Ce sont des anticorps spécifiques, obtenus à partir d'immun sérums de lapins, liés à des particules. Les réactifs peuvent contenir des anticorps d'une ou plusieurs bactéries à la fois (réactifs mélange). Les réactifs sont colorés en violet pour faciliter la lecture des tests et sont présentés en flacons compte-gouttes en plastique de 1 ou 2 ml voir figure 19.

III.2.4.3. Equipement requis

1 – Une plaque transparente bien propre avec puits 2X4 (Citoglas, Angleterre) voir figure 20 ;
2 – Les réactifs monovalents *E.coli* aviaire : O1, O2, O78 (Biovac, France).
3 – Colonies bactériennes isolées sur milieu non sélectif tryptocaséine soja (TSA) (Biolab, Algérie). Le temps d'incubation dépend de la souche, il est en général d'une nuit ;
4 – Une öese ou une pipette Pasteur ;
5 – Sérum physiologique 0.9%.

Figure 19: Réactifs monovalents *E.coli* aviaire (O1, O2, O78) (Photo personnelle).

Figure 20: Lame de sérotyapage 8 puits (Photo personnelle).

III.2.4.4. Préparation des souches

A partir des tubes des milieux de conservation les souches bactériennes sont revivifiées on ensemençant les tubes de BHIB par un bout de la gélose du milieu de conservation qui contient la souche puis mis en incubation 18h à 37°C voir figure 21 :

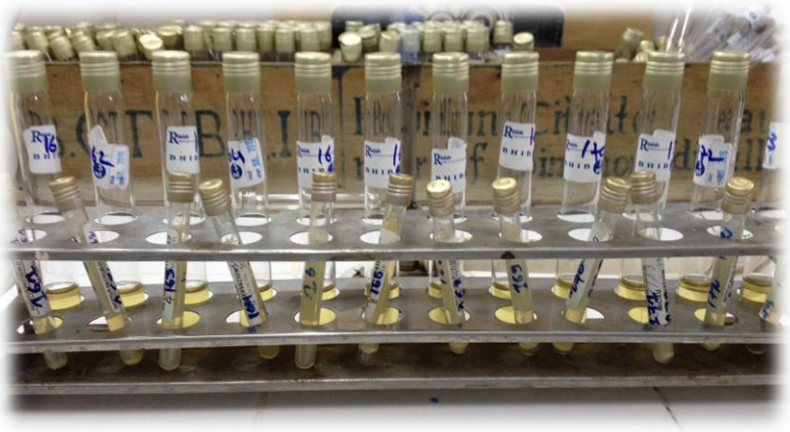


Figure 21 : Revivification des souches *E.coli* a partir du milieu de conservation sur BHIB (Photo personnelle).

Ensuite une goute du bouillon BHIB est ensemencée sur un milieu non sélectif adapté à la croissance dans ce cas tryptocaséine soja (TSA) selon les recommandations du fabriquant des sérums. La souche à tester doit être cultivée généralement à 37°C pendant une nuit (voire plus en fonction de la souche) voir figure 22:

Figure 22: Colonies *d'E.coli* sur gélose tryptocaséine soja (TSA)
(Photo personnelle).

III.2.4.5. Mode opératoire

L'ensemble des composants doit être porté à température ambiante avant utilisation. Eviter toute chaleur excessive, en particulier celle provenant d'une source lumineuse et secouer vigoureusement le flacon avant utilisation pour reconstituer la suspension.

III.2.4.5.1. Réalisation des témoins

Le réactif ainsi que la colonie doivent être contrôlés avant le test :

a – Contrôle des réactifs : déposer dans un puits une goutte de réactif (environ 30 µl) et ajouter une goutte (environ 30 µl) de sérum physiologique.

Absence d'agglutination : réactif de bonne qualité (le réactif peut être utilisé).
Présence d'agglutination : réactif de mauvaise qualité (il faut changer de réactif).

b – Contrôle de la culture bactérienne : dans un autre puits déposer une goutte de sérum physiologique (environ 30 µl). A l'aide d'une pipette Pasteur ou d'une öese, prélever 3 à 4 colonies (les colonies doivent être visibles à l'œil nu). Emulsionner délicatement dans la goutte

de liquide physiologique. La culture bactérienne est conforme si aucune agglutination n'apparaît après mélange, le test peut être effectué une fois que ces 2 contrôles qualité sont conformes.

III.2.4.5.2. Test

Déposer une goutte de réactif dans un autre puits de la plaque. A l'aide d'une pipette pasteur ou d'une öse, prélever 3 à 4 colonies. Les mélanger au réactif pendant 5 secondes puis agiter doucement ce mélange pendant 30 secondes.

III.2.4.5.3. Lecture et Interprétation des résultats

La lecture doit être effectuée juste après l'agitation.

L'apparition d'agglutinats colorés en 30 secondes d'agitation si le test est réalisé avec des colonies et en 2 minutes si le test est réalisé avec des suspensions. Si le test est réalisé avec des suspensions diluées, le délai d'apparition des agglutinats peut être plus long.

L'évaluation qualitative de l'agglutination est : + (agglutination faible) ; ++ (agglutination moyenne) et +++ (agglutination forte).

Absence agglutinats le test est considères comme négatifs.

III.2.4.5.4. Réactions croisées

En cas de réaction croisée, le test doit être renouvelé avec une suspension dense (Densité optique comprise entre 1,4 and 1,8, à 580nm ou 3 Mac Farland, l'agitation du mélange réactif plus suspension dense est de 2 minutes.

Si la réaction croisée persiste, diluer la suspension au ½ puis au¼, le sérotype correspondant est celui pour lequel les agglutinats apparaissent le plus rapidement.

III.2.5. Antibiogramme

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

III.2.5.1. Principe

La méthode de diffusion des disques sur milieu solide, ou antibiogramme standard, est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques 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.

Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe.

Le tableau 7 représente les disques d'antibiotiques utilisés et leurs charges :

Tableau 7 : Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme.

Famille	Antibiotiques testés	Charge du disque	Sigle	Origine
Bétalactamines	Amoxicilline/Ac clavulanique*	20/10 µg	AUG 30	Liofilchem, Italie
	Ceftazidime*	30 µg	CAZ30	
	Ceftriaxone*	30µg	CRO 30	
	Aztreonam*	30 µg	ATM	
	Cefotaxime*	30 µg	CTX 30	
	Ampicilline	10 µg	AMP 10	
Phénicolés	Chloramphénicol	30 µg	C 30	
Polypeptides	Colistine sulfate	10 µg	CS 50	
Aminosides	Néomycine	30 µg	N 30	
	Gentamicine	10 µg	CN^{10}	Bioanalyse, France
Sulfamides	Triméthoprime-sulfaméthoxazole	(25) µg	SXT^{25}	
Furanes	Nitrofurantoïne	300 µg	F 300	
Cyclines	Tétracycline	30 µg	TE 30	Bio-rad, France
Quinolones	Acide nalidixique	30 µg	NA 30	
	Enrofloxacine	5 µg	ENR 5	

***** Antibiotiques pour la recherche de souches betalactamase à spectre élargie.

III.2.5.2. Technique

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

A- Inoculum

- ❖ A partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- ❖ Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% ;
- ❖ Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland voir figure 23;
- ❖ L'inoculum peut être ajusté, en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort ;
- ❖ L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

Figure 23: Suspension bactérienne dense de 0.5 Mc Farland pour antibiogramme (Photo personnelle).

B- Ensemencement

❖ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;

❖ L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;

❖ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;

❖ Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

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

C- Application des disques d'antibiotiques

❖ Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques dans une boîte de 90 mm de diamètre comme indiqué dans le tableau 8 et illustré dans la figure 24 :

Tableau 8 : Application des disques d'antibiotique par boîte de pétri.

Boites	**Les disques d'antibiotiques**					
1	AMP 10	AMC 30	CS 50	NA 30	CTX 30	SXT^{25}
2	F300	C 30	TE 30	CN^{10}	ENR 5	N 30

Figure 24 : Application des disques dans les deux boites de l'antibiogramme (Photo personnelle).

❖ Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre ;

❖ Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

D- Incubation

❖ 18 heures à 35°C ;

❖ La durée d'incubation peut être prolongée dans certains cas : oxacilline, glycopeptides et aminosides.

III.2.5.3. Lecture

❖ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée ;

❖ Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI des entérobactéries, figurant dans les tables de lecture de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale en medecine humaine et vétérinaire 7 édition (2014) (voir annexe IV) ;

❖ Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

III.2.6. Recherche de la β-lactamase à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries

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

III.2.6.1. Méthode de détection de la BLSE

On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes :
cefotaxime (CTX ≤ 27mm), ceftazidime (CAZ ≤22mm), ceftriaxone (CRO ≤ 25mm) et aztréonam (ATM ≤ 27mm).

III.2.6.1.1. Test de synergie selon Jarlier *et al.* (1988)

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

1) Technique pour les Entérobactérie

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

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

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

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

Dans notre étude nous avons mis l'Amoxicilline/ Ac clavulanic au centre des quatre disques aztreonam ATM 30, ceftriaxone CRO 30, cefotaxime CTX 30 et ceftazidime CAZ 30 voir figure 25 :

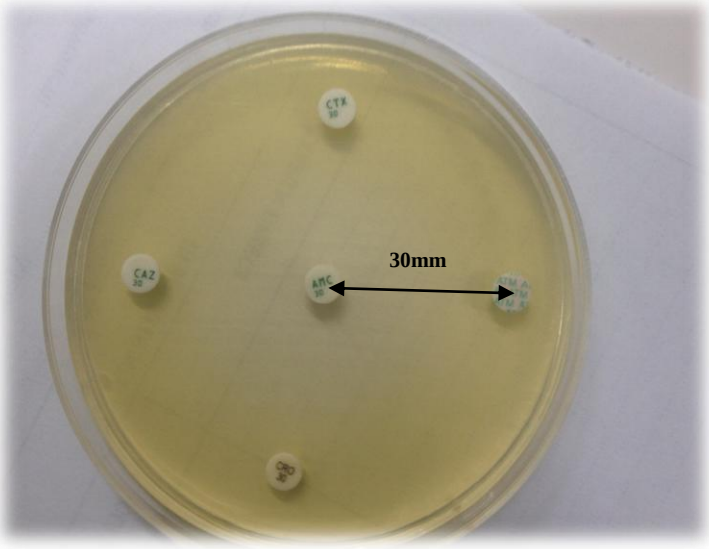


Figure 25: Application des disques pour la recherche de betalactamase (Photo personnelle).

3) Lecture test de synergie

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

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

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

III.2.6.1.2. Test de confirmation du double disque

Ce test devra être fait systématiquement devant :

- L'absence de synergie avec diminution des diamètres des Céphalosporines de 3ème génération ;

- La présence d'une résistance aux molécules suivantes (ampicilline, ticarcilline, cefazoline avec un diamètre <6mm) par contre l'amoxicilline+acide clavulanique présente un diamètre d'inhibition.

1) Description de la technique

A partir d'une culture de 18H préparer une suspension d'une opacité égale à 0.5 Mc Farland selon la technique de l'antibiogramme.

Ensemencer par écouvillonnage la boite de Mueller Hinton.

2) Application des disques

On dépose un disque d'AMC (20/10 µg) et un disque de céphalosporine de 3ème génération (cefotaxime 30 µg ou ceftriaxone 30µg) à une distance de 30mm (centre à centre) (figure 26).

- ✓ Laisser diffuser les antibiotiques ;
- ✓ La boîte gélosée ensemencée sera déposée le couvercle vers le haut à la température ambiante pendant 1 heure ;

- ✓ Après 1 H d'incubation sur la paillasse (T° ambiante), ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de cefotaxime ou ceftriaxone ;
- ✓ Incuber la boîte 18 H à 35°C (figure 27).

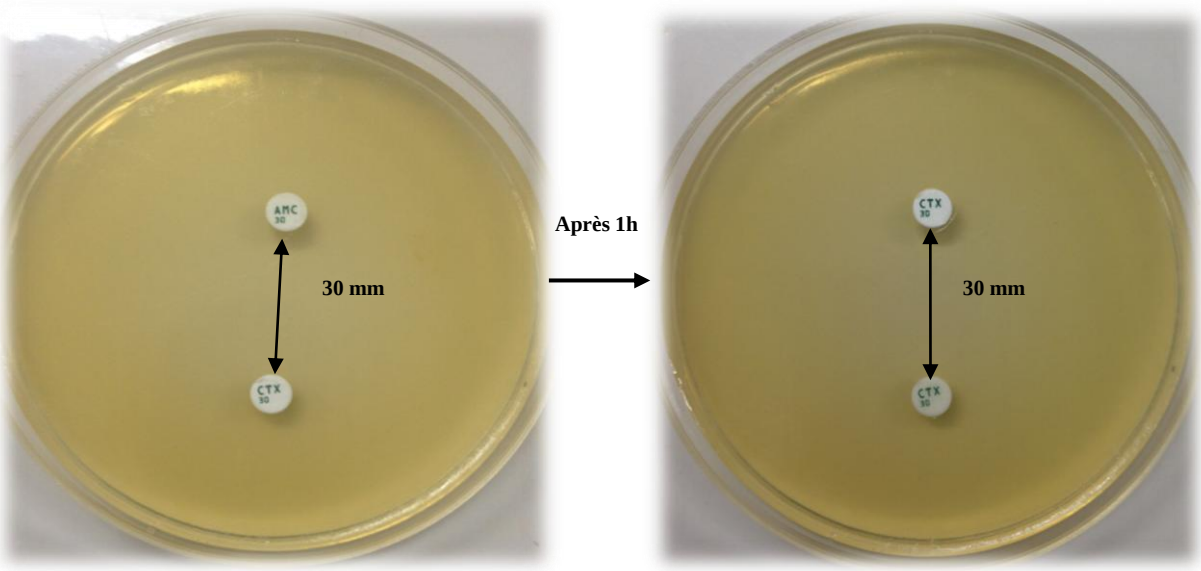


Figure 26: Test du double disque application d'AMC et CTX à une distance de 30 mm

Figure 27: Test du double disque remplacement du disque d'AMC par CTX après 1h incubation à température ambiante.

3) Lecture et interprétation

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3ème génération appliqué après pré diffusion du disque de l'AMC ou TCC est **supérieur ou égal à 5mm** par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3ème génération.

Exp: BLSE, diamètre de la CAZ = 16 mm ; diamètre de l'AMC + CAZ = 21mm.

III.2.7. Caractérisation des souches *E.coli* β-lactamases par PCR (Polymerase Chain Reaction)

La partie moléculaire a été faite à l'institut Pasteur de Delly Brahim Algérie, au niveau du laboratoire de bactériologie médicale et surveillance de la résistance aux antibiotiques.

III.2.7.1. Principe

La technique de réaction de polymérisation en chaîne ou PCR permet d'amplifier en un

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

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

III.2.7.2. L'extraction de l'ADN total

- ✓ Identifier l'échantillon par un code sur le dessus d'un tube de 1,5 ml, centrifuger 1 ml de la culture LB pour (incubées toute la nuit à 37°C) à 12 000 tours/mn pendant 2 minutes.
- ✓ Jeter le surnageant dans une bouteille en verre corning réservée à cet usage ;
- ✓ Ajouter 1 ml de FA buffer au culot, bien mélanger (Homogénéiser au vortex) ;
- ✓ Centrifuger à 12 000 tours/mn pendant 2 minutes, enlever le surnageant et suspendre
- ✓ le culot dans 0,5 ml d'eau distillée stérile et homogénéiser (au vortex) ;
- ✓ Chauffer à 100°C pendant 10 minutes, centrifuger à 12 000 tours/mn pendant 2 minutes.
- ✓ Transférer le surnageant contenant l'ADN dans un autre tube et identifier le tube.
- ✓ Conserver l'échantillon d'ADN à -20°C jusqu'à son utilisation.

III.2.7.3. réalisation de la PCR shv, tem, ctx m1, ctx m2, ctx m8, ctx m9

Nous avons effectué 6 PCR uniplex, les gènes codants pour tem et shv ont été amplifiée selon la technique décrite par Hennequin *et al.* (2012) et ceux codant pour les pénicillinases de type CTX-M des groupes phylogénétiques, 1, 2, 8 et 9 par la technique décrite par Bonnet *et al.* (2000).

L'amplification a été faite en ajoutant 5 µl d'ADN dilué au 1/50 ème avec 45 µl de Mix dans des microtubes de 0,2 ml, les témoins négatifs c'est le MIX.

La composition du mélange des réactifs « le MIX », les amorces utilisées ainsi que les souches de contrôles sont présentés dans les tableaux 09 et 10 :

Tableau 9 : La composition du mélange des réactifs « le MIX ».

Réactifs	Volume pour 36 échantillons
Tampon taq 10x + MgCl2 (1,5 mM)	360 µl
D NTP 0,2 µm	180 µl
Amorce F 100µM	4 µl
Amorce F 100µM	4 µl
Eau stérile	1073 µl
Volume final	1621 µl
Taq polymérase (5UI/µl)	6 µl

Tableau 10 : Liste des amorces utilisées pour la PCR

Gène	Amorces	Taille (pb)	Souches de contrôle
bla shv	Forward 5'TCGCCTGTGTATTATCTCCC Reverse 5'CGCAGATAAATCACCACAATG	**768**	PMON38
bla tem	Forward: 5`-GAGTATTCAACATTTTCGT-3` Reverse: 5`-ACCAATGCTTAATCAGTGA-3`	**857**	ECL3482
bla ctx m1	Forward: 5`-GGTTAAAAAATCACTGCGTC-3` Reverse: 5`-TTGGTGACGATTTTAGCCGC-3`	**863**	*E.coli* U2A 1790
bla ctx m2	Forward: 5`-ATGATGACTCAGAGCATTCG -3` Reverse: 5`-TGGGTTACGATTTTCGCCGC -3`	**865**	*Salmonella sp.* U2A 2145
bla ctx m8	Forward: 5`- ATGGCGCAGACGCTTCGC -3` Reverse: 5`- ATTTTCGCGGCAGCCGCG -3`	**292**	EC134200
bla ctx m9	Forward: 5`- ATGGTGACAAAGAGAGTGCA-3` Reverse: 5`-CCCTTCGGCGATGATTCTC -3`	**869**	*E.coli* U2A1799

Le nombre de cycle est de 30, les cycles de températures pour les PCR *tem, shv* et les PCR *ctx m* sont présentés dans les tableaux 11 et 12 respectivement:

Tableau 11 : Les cycles de la PCR *tem et shv*.

Température	Durée
94 °C	3 Min
94°C 59°C 72°C	35 s 1 min 1min 30 s
72°C	10 min
4°C	Jusqu'à la fin

Tableau 12 : Les cycles de la PCR *ctx m*.

Température	Durée
94°C	5 MIN
94°C 60°C 72°C	1mn 1mn 1mn
72°C	7 mn
4 °C	Jusqu'à la fin

III.2.7.4. Électrophorèse sur gel d'agarose

III.2.7.4.1. Préparation du gel

• Prendre 2,3g de poudre d'agarose et dissoudre dans un Erlen contenant 30 ml de solution tampon puis chauffer le mélange dans un four à micro-onde pendant 60 secondes ;

• Remuer le mélange et réchauffer de nouveau pendant 45 secondes ;

• Ensuite ajouter 3 µl de SYBr (fluorophore permettant de visualiser le gène présent dans l'échantillon) puis verser le mélange dans le moule une fois les peignes placés (permet l'obtention de puits) ;

• Laisser reposer 1 heure dans l'obscurité (pour éviter la dénaturation du SYBr).

III.2.7.4.2. Réalisation de l'électrophorèse sur gel d'agarose

• Mettre dans chaque puits 20 µl de produit de la PCR préalablement coloré avec du bleu de bromophénol, sauf le 7 ème puits qui lui reçoit 5µl de la solution colorée de paires de bases et le 8 ème puits contrôle positif et le 9 ème c'est le contrôle négatif ;

• Lancer l'électrophorèse sur gel d'agarose sous un voltage constant de 98 volts pendant 30 à 40 mn correspondant au temps de migration.

Le logiciel Fusion–X a été utilisé pour l'acquisition d'une image de l'électrophorèse dont la lecture se fait suivant la présence d'une bande correspondant au poids moléculaire du gène testé. Un échantillon est positif à un gène lorsqu'une bande fluorescente blanche apparait sur sa zone de migration et lorsque cette bande se situe sur la même ligne horizontale que celle de la bande du contrôle positif (celle-ci est repérée grâce aux paires de bases).

III.2.8. Analyse statistique

Le traitement statistique des données et les présentations graphiques sont réalisés à l'aide d'un logiciel Microsoft Office Excel 2007. Pour la comparaison des résultats nous appliquons les tests non paramétriques, le test Chi deux (χ^2), la correction de Yates et le test exact de Fisher (le seuil de signification est d'au moins 5%).

Remarque : Nous comparons nos résultats à chacune des autres études et non pas les études entre elles.

Notre objectif est d'isoler le germe *Escherichia coli* à partir des organes (foies et rates, organes filtres qui concentrent le germe) de sujets présentant les lésions de colibacillose, puis d'étudier leur sensibilité vis-à-vis de douze molécules antibiotiques, étudier les multirésistances et les profils de resistance, rechercher les souches BLSE, sérotyper ces souches et la caractérisation moléculaire des souches *E.coli* BLSE.

I. Lésions rencontrées lors des autopsies

L'examen nécropsique de 236 carcasses autopsiées révèle les lésions suivantes :

I.1. Aérosacculite

Lors de l'atteinte du tractus respiratoire, cette lésion va du simple dépolissement (figure 28) à la formation d'omelette fibrineuse des sacs aériens conduisant à leur opacification (figure 29).

Les sacs aériens, entre autres, s'épaississent et présentent un aspect congestif, rencontrée lors de la forme respiratoire de la colibacillose. Cette observation rejoint ce qui est décrit par Stordeur et Mainil (2002) et Guérin *et al.* (2011).

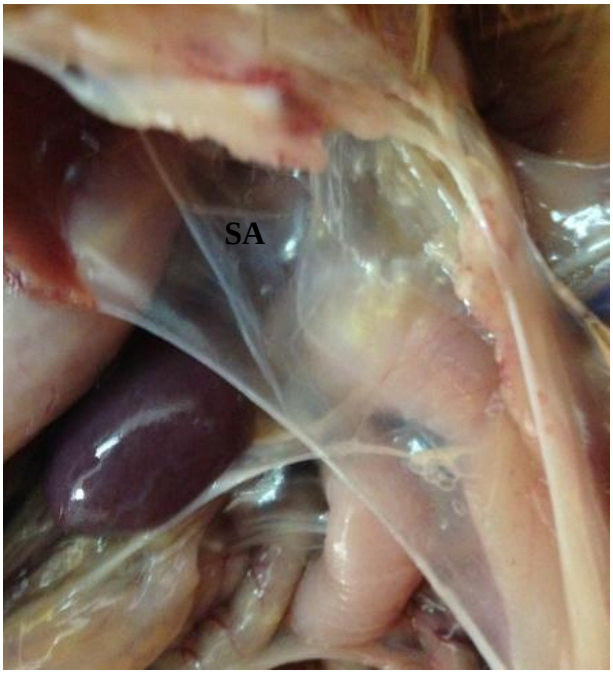


Figure 1 : Lésion d'aérosacculite. SA : sac aérien (Photo personnelle)

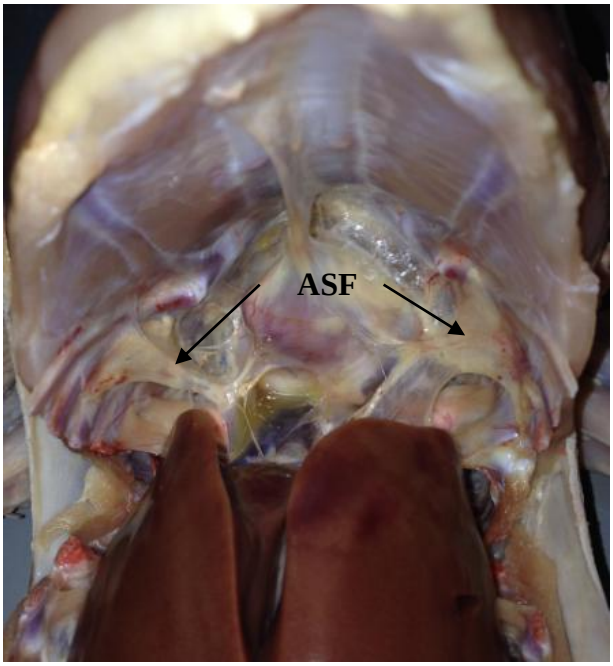


Figure 2 : Lésion d'aérosacculite. **ASF** : aérosacculite fibrineuse (Photo personnelle)

I.2. Péricardite

Les sujets autopsiés présentent une inflammation plus ou moins productive (exsudat et augmentation du nombre des cellules inflammatoires localisées au niveau du sac péricardique durant la phase aiguë). La figure 30 montre une péricardite avec un péricarde qui prend un aspect opaque et œdémateux et se remplit d'un exsudat fibrineux. Notre observation concorde avec celle de Stordeur et Mainil (2002).

La figure 31 présente une péricardite avec dépôt fibrineux important. La péricardite est rencontrée le plus souvent lors de la forme respiratoire de colibacillose comme rapporté par Guérin *et al.* (2011).

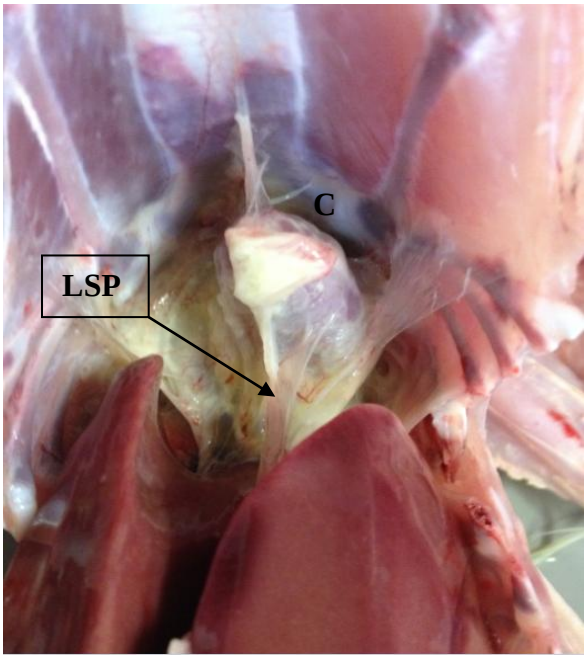


Figure 3 : Péricardite. **LSP** : Liquide séreux dans le sac péricardique (Photo personnelle)

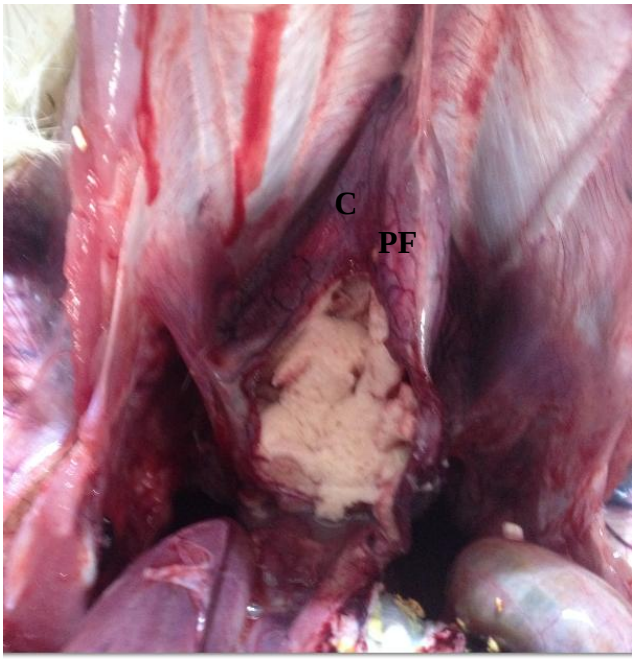


Figure 4 : Péricardite chez une dinde de 12 semaines. **C** : Cœur ; PF : Péricardite avec dépôt fibrineux (Photo personnelle)

I.3. Perihépatite

Les sujets atteints présentent un foie hypertrophié et congestionné, avec une coloration très foncée (figure 32) dans les formes les plus aiguës, ce qui traduit un phénomène d'intoxination due à l'endotoxine du colibacille.

Certain sujets présentent des zones de dégénérescence. Parfois le foie est verdâtre (due à l'oxydation de la bile). Cette lésion est surtout localisée au niveau du foie. Elle est

caractérisée par de la congestion, un épaississement du tissu et un dépôt de fibrine, ce qui rejoint l'observation de Stordeur et Mainil (2002).

Le dépôt est parfois tellement important (figure 33) que la surface de l'organe prend l'aspect d'une crêpe. Cette observation concorde avec ce qui est rapporté par Jordan et Pattison (1996).

Cette lésion du foie (perihépatite) est rencontrée dans les deux formes de la maladie, la forme respiratoire et septicémique, comme observé par Guérin *et al.* (2011).

Figure 5 : Foie hypertrophié présentant la lésion de périhépatite (Photo personnelle).

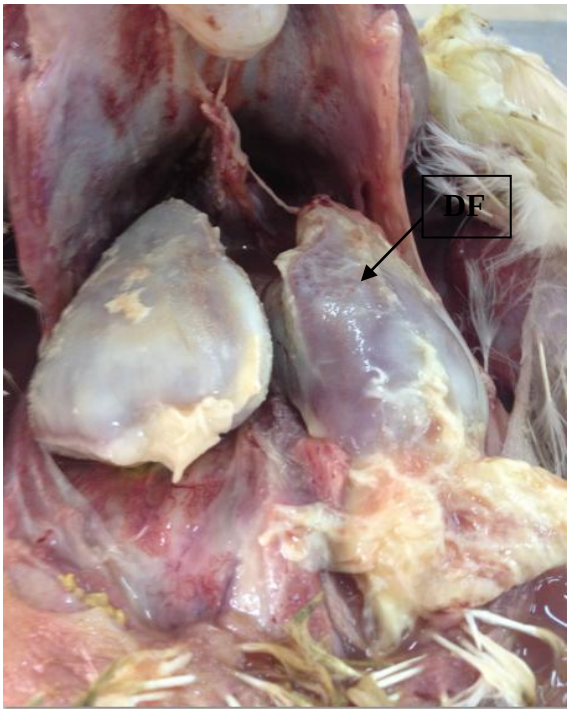


Figure 6 : Carcasse présentant de la périhépatite. **DF** : Dépôt de fibrine (Photo personnelle).

I.4. Congestion de la rate

Sur les 236 sujets autopsiés, 80% présentent une rate hypertrophiée, congestionnée et épaissie, avec parfois présence de points de nécrose (figure 35). Notre observation rejoint celle de Guérin *et al.* (2011).

La congestion de la rate (figure 34) est rencontrée lors de colisepticémie. Cela concorde avec ce que rapportent Stordeur et Mainil (2002) et Guérin *et al.* (2011).

Figure 7 : Rate congestionnée et hypertrophiée chez le poulet de chair de 7 semaines (Photo personnelle).

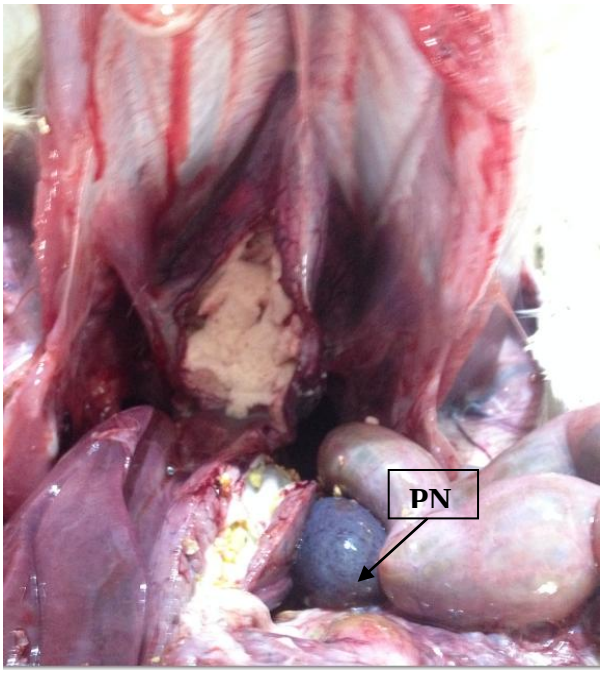


Figure 8: Rates hypertrophiées et congestionnée chez dinde de 12 semaines. **PN** : Points de nécrose (Photo personnelle).

I.5. Fréquences et répartition des lésions rencontrées

Les fréquences et la répartition des différentes lésions de la colibacillose rencontrées lors de l'examen nécropsique sont présentées dans le tableau 13 et illustrées dans la figure 36 :

Tableau 13 : Répartition et fréquence des différentes lésions de colibacillose

Fréquence des lésions (%)	Aérosacculite	Péricardite	Périhépatite	Congestion de la rate
Notre étude	67,7	76, 27	91,16	80
Ahmed Ammar (2009)	44,04*	34,52*	66,66	71,42

Chi^2

*: Différence significative sur la même colonne.

A la lumière du tableau 13, nous constatons que les lésions rencontrées correspondent à la colibacillose respiratoire polysérosité fibrineuse figure 37 (perihépatite, péricardite et aérosacculite) et à la colisepticémie figure 38 (congestion généralisé des organes et de la carcasse).

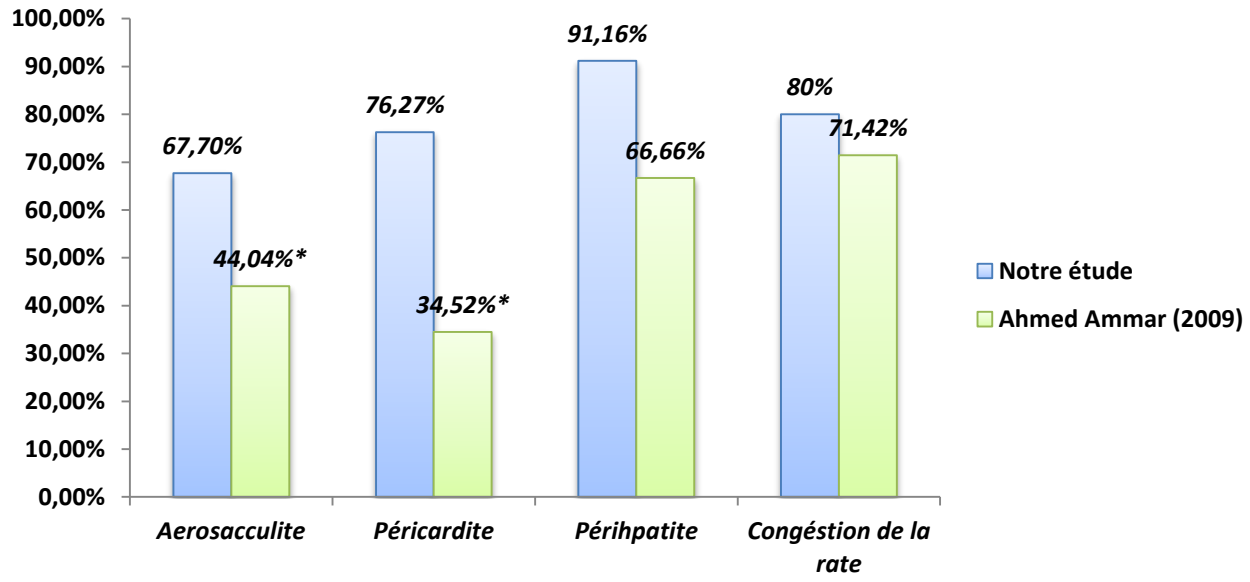


Figure 36 : Fréquences des lésions rencontrées lors de l'autopsie.

Figure 9 : Colibacillose respiratoire polysérosité fibrineuse (Photo personnelle).

Figure 10: Colisepticémie (Photo personnelle).

Ces deux formes constituent l'expression principale de la colibacillose, et sont les formes les plus communes de la maladie chez le poulet et la dinde chair, comme rapporté par Dho-Moulin et Fairbrother (1999), Stordeur et Mainil (2002) et Barnes *et al.* (2003), Guérin *et al.* (2011).

La voie d'entrée de ces agents pathogènes est représentée principalement le tractus respiratoire (Nakamura *et al.* 1992 ; Gyles et Fairbrother, 2010). Ceci concorde avec nos résultats qui indiquent que 67,7% des sujets présentent de l'aérosacculite. Ceci s'explique par un manque voire un défaut de mécanisme de défense cellulaire résidant des sacs aériens. Ces derniers doivent compter sur l'afflux des hétérophiles comme première ligne de défense cellulaire, suivi par les macrophages (Toth et Siegel, 1986).

L'altération de la muqueuse respiratoire favorise le passage et la multiplication du germe dans la circulation sanguine, grâce (i) aux différents mécanismes de résistance, (ii) à l'effet bactéricide du sérum et (iii) aux facteurs de virulence que possède ce dernier, pour arriver à d'autres organes plus profonds et provoquer ainsi ces lésions. Ce qui explique la péricardite (76,27%), la périhépatite (91,16%) et la congestion de la rate (80%).

Nos résultats sont significativement plus élevés pour les lésions d'aérosacculite et de péricardite ($p < 0,05$) que ceux obtenus par Ahmed Ammar (2009). , *Cette différence pourrait s'expliquer* d'une part par le choix de l'échantillon, car nous avons effectué des autopsies sur des sujets présentant une carcasse congestionnée. C'est donc la forme septicémique de la maladie, expliquant l'atteinte des organes profonds, alors que l'étude d'Ahmed Ammar (2009) s'est basée sur des sujets vivants présentant des symptômes de colibacillose (retard de croissance. bec ouvert, respiration accélérée), ainsi que des sujets suspectés de salmonellose.

D'autre part, comme signalé par Pourbakhsh *et al.* (1997a et 1997b), le type et la sévérité des lésions, ainsi que la durée, le degré et l'issue de la maladie, sont déterminés par la virulence de la souche et l'efficacité des moyens de défense de l'hôte.

II. Bactériologie

Les résultats globaux de la bactériologie : l'identification le sérogroupage et l'antibiogramme des 222 isolats sont en tableau V voir annexe VIII.

II.1. Isolement et identification des *E. coli*

Sur les 236 sujets autopsiés, 222 isolats d'entérobactéries sont récoltés. *Escherichia coli type* 1 représentée l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée (82,20%), suivi d'*Escherichia coli type 2* (2.54%) Les différentes espèces bactériennes isolées sont présentées dans le tableau 14 et illustrées dans la figure 39 :

Tableau 8 : Pourcentage des entérobactéries isolées lors de notre étude.

Entérobactéries isolées	Nombre (N=236)	Pourcentage (%)
Escherichia coli type 1	**194**	**82,20**
Escherichia coli type 2	**6**	**2,54**
Salmonella gallinarum	6	2,54
Proteus mirabilis	5	2,11
Citrobacter brakii	1	0,42
Citrobacter frendii	2	0,84
Escherichia vulneris	1	0,42
Escherichia fergusonii	1	0,42
Serratia odorifera 2	1	0,42
Pantoea spp4	1	0,42
Aeromonas hydophyla caviae sorbia2	1	0,42
Enterobacter cloacae	1	0,42
Kluyvera spp	1	0,42
Klebsiella oxytoca	1	0,42

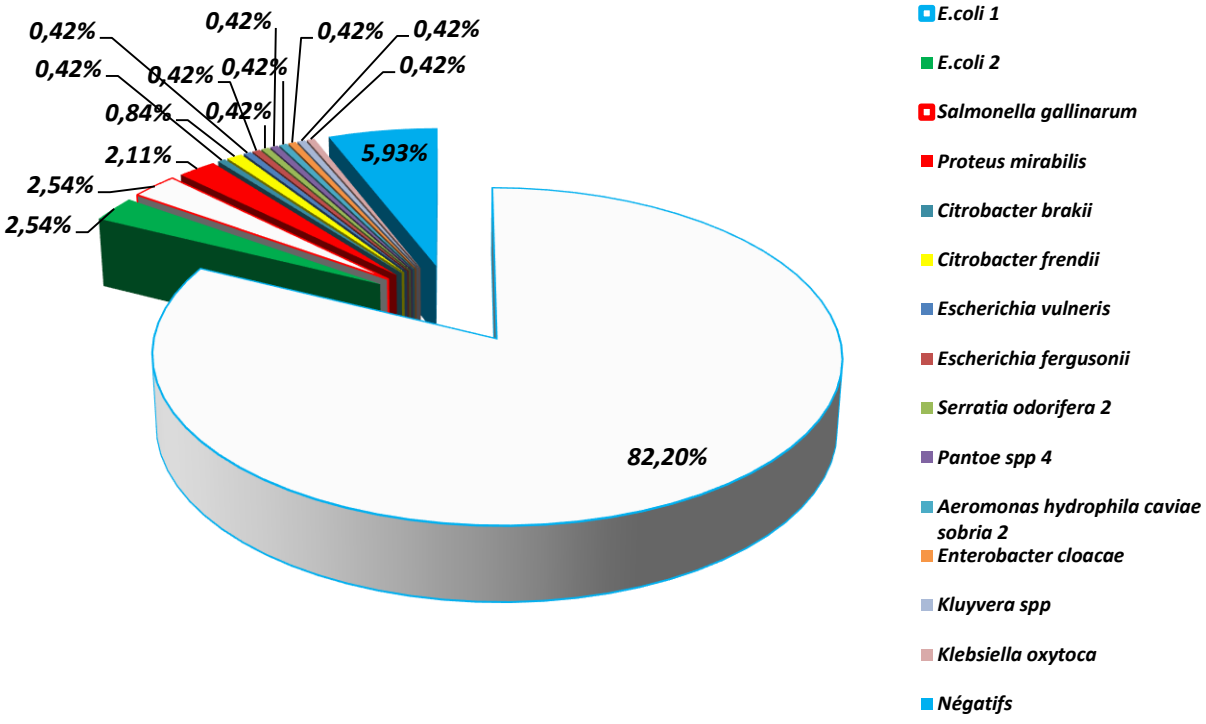


Figure 11 : Fréquence des entérobactéries isolées dans notre étude.

A partir de 236 sujets nous avons isolé 200 souches *E.coli* (84,74%), 179 à partir des poulets de chair et 21 souches des dindes chair, ainsi que 22 autres espèces d'entérobactéries appartenant à 12 genres différents, alors que 14 ont été négatifs.

Dans notre étude, la bactérie *E. coli* est isolée de sujets suspectés de colibacillose, en se basant sur l'aspect extérieur de la carcasse et les lésions d'aérosacculite, péricardite et périhépatite, présentes lors de la forme respiratoire de la maladie.

De même, la bactérie est isolée à partir des sujets qui présentent la congestion de tous les organes, évoquant la forme septicémique (colisepticémie) de la maladie comme décrit précédemment.

A partir de ce résultat, nous pouvons conforter avec une grande vraisemblance le diagnostic de la pathologie en fonction de ces lésions uniquement.

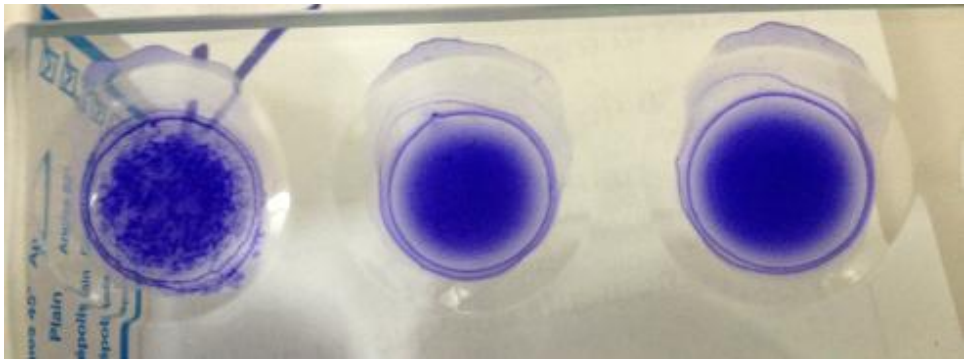
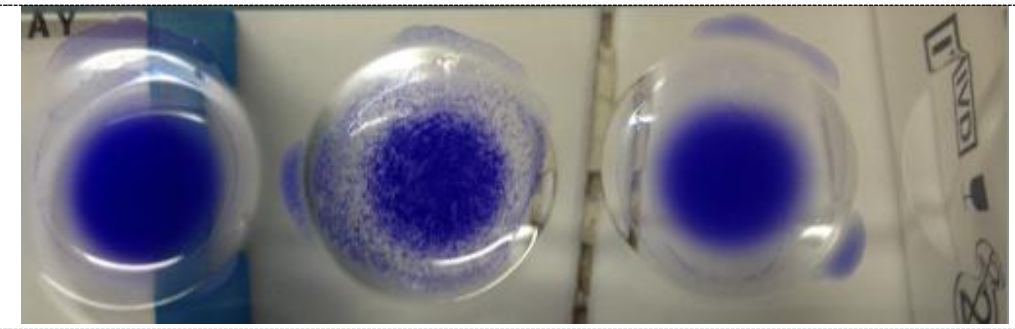
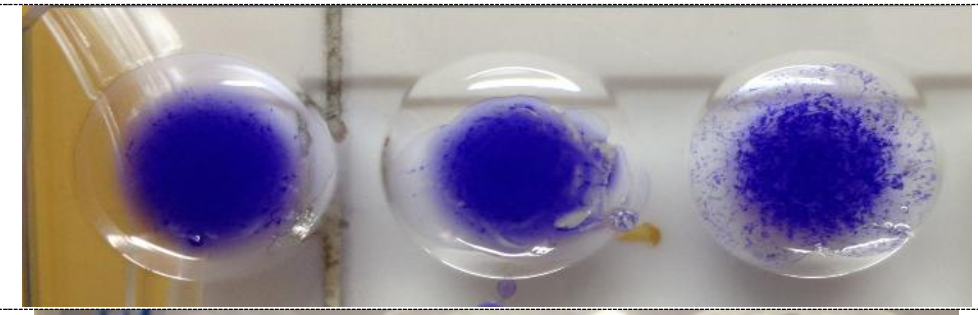
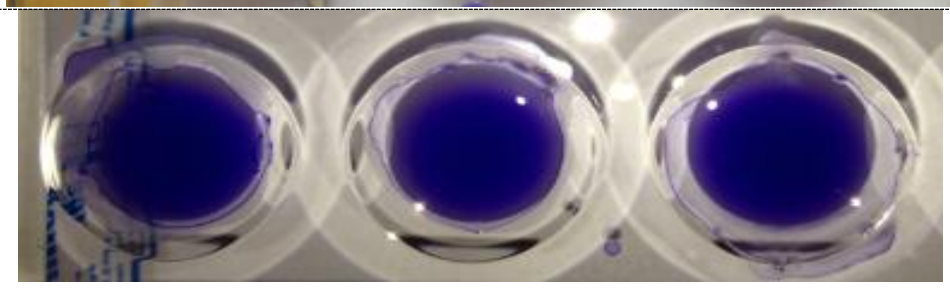
A l'exception de l'espèce *Salmonella gallinarum* qui cause une pathologie bien définie la typhose où *E.coli* été un agent de surinfection, les autres genres isolés *Proteus, Aeromonas, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Kluyvera,* sont trouvés seuls ou en coïnfection avec *E.coli* sont bien des infections sporadique et leur rôles dans la pathologie est peu connu comme rapporté par (Barnes, 2003).

Pour les 14 prélèvements restant soit 5,93%, la culture bactérienne était négative malgré que les sujets présentent les lésions de la pathologie étudiée, l'explication la plus probable est que les sujets étaient sous antibiothérapie ce qui a empêché la poussée des bactéries au laboratoire.

III. Le sérogroupage des souches *E.coli*

Les résultats de la sérotypie réalisée sur les 200 souches *E.coli* isolées lors de notre étude, ont permis d'identifier trois sérogroupes différents O1, O2 et O78, et ceci par la mise en évidence des éventuelles réactions d'agglutination des antigènes somatiques O et les anticorps des sérums monovalents spécifiques voir le tableau 15 :

Tableau 9: Différentes agglutinations des sérogroupes d'*E. coli.*

Code	Sérum O1	Sérum O2	Sérum O78	Résultats
Souche n°20				Souche *E.coli* O1 +++
Souche n°23				Souche *E.coli* O2 +++
Souche n°145				Souche *E. coli* O78 +++
Souche n°21				Souche *E.coli* Non typable NT

Le nombre et les fréquences des différents sérogroupes des souches *E.coli* isolées sont représentés dans le tableau 16 et la figure 40 :

Tableau 10 : Nombre et fréquences des sérogroupes des souches *E.coli* isolées.

Sérogroupes *E.coli*	Nombre *E.coli* n=200	Pourcentages (%)
***E.coli* O1**	59	29,5
***E.coli* O2**	69	34,5
***E.coli* O78**	28	14
***E.coli* Non typable**	44	22

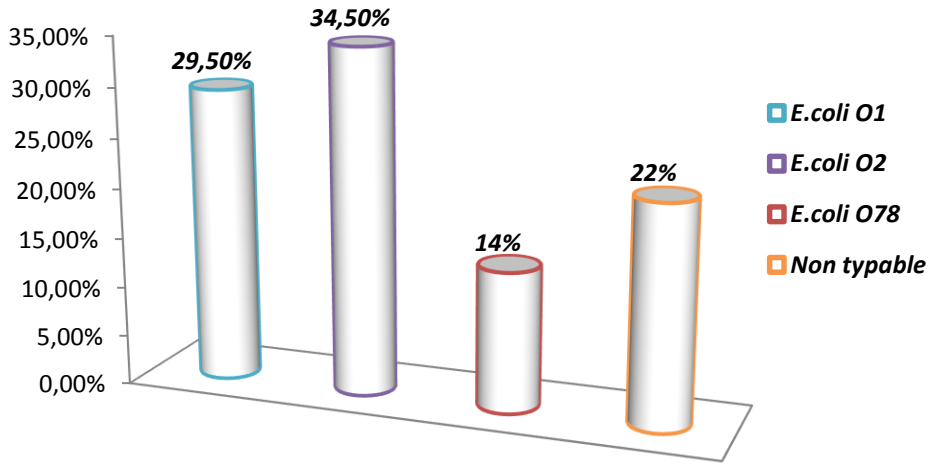


Figure 12 : Fréquences des sérogroupes des souches *E.coli* isolées.

En effet, l'antigène O2 était à l'origine de la formation des agglutinats chez 34,5 % de nos bacilles. Ainsi, les deux autres sérogroupes le O1 et le O78 ont été détectés respectivement dans 29,5% et 14% de nos souches. En revanche, aucune agrégation n'a été révélée vis-à-vis des 22 % des isolats restants, ce qui témoigne, sans nul doute, leur appartenance à d'autres groupes sérologiques.

La prédiction de la pathogénicité des germes isolés d'animaux malades est cruciale. Pour ce qui est des *Escherichia coli*, le sérotypage demeure le fondement de tout diagnostic de pathogénicité, même s'il permet l'identification d'un nombre restreint des APEC comme rapporté par Durso et *al.* (2005) et Schouler et *al.* (2012). Toutefois, le nombre de sérotypes pathogènes fréquents reste limité comme décrit par Orskov et Orskov (1992).

Tableau 10: Fréquences des différents sérogroupes rencontrés dans notre étude et autres auteurs.

Auteurs \ Sérogroupes (%)	O1	O2	O78	NT
Nos résultats	29,5	34,5	14	22
Dozois *et al.* (1992)	7,1£	1,8£	45£	23
Zhao *et al.* (2005)	1,1£	2,1£	12	60£
Hammoudi et Aggad (2008)	9,1£	29,1	43,9£	17,9
Aggad *et al.* (2010)	15£	16£	21	48£
Schouler *et al.* (2012)	6£	17,3£	17,6	43,5£

Chi^2

£ : Différence significative sur la même colonne.

Concernant le sérogroupe O1, le taux de 29,5% enregistré dans notre étude est significativement plus élevé ($p<0,05$) par rapport à ceux rapportés par Dozois *et al.* (1992), Zhao *et al.* (2005), Hammoudi et Aggad (2008), Aggad *et al.* (2010) et Schouler *et al.* (2012) où ils ont enregistrés les taux de 7,1, 1,1, 9,1, 15 et 6% respectivement.

Concernant le sérogroupe O2, le taux de 34,5% enregistré dans notre étude est significativement plus élevé ($p<0,05$) par rapport à ceux rapportés par Dozois *et al.* (1992), Zhao *et al.* (2005), Aggad *et al.* (2010) et Schouler *et al.* (2012) où ils ont enregistrés les taux de 1,8, 2,1, 16 et 17,3% respectivement. Et proche de celle enregistrée par Hammoudi et Aggad (2008) où le taux est de 29,1%, pas de différence significative ($p>0,05$).

Concernant le sérogroupe O78, le taux de 14% enregistré dans notre étude est proche par rapport à celui rapporté par Zhao *et al.* (2005) ou ils ont enregistrés un taux de 12%, et il est inferieur à ceux enregistrés par Aggad *et al.* (2010) et Schouler *et al.* (2012) où ils ont enregistrés les taux de 21 et 17,6% respectivement. Notre taux est significativement plus bas ($p<0,05$) par rapport à ceux rapportés par Dozois *et al.* (1992) et Hammoudi et Aggad (2008) où ils ont enregistrés 45 et 43,9 % respectivement.

Concernant les souches non typables par les sérums utilisés dans notre étude qui sont l'O1, O2 et O78, le taux de 22% enregistré dans notre étude est proche à ceux enregistrés par Dozois *et al.* (1992) et Hammoudi et Aggad (2008) où les taux enregistrés sont 23 et 17,9% respectivement. Cependant notre taux est significativement plus bas ($p<0,05$) à ceux rapportés

par Zhao *et al.* (2005), Aggad *et al.* (2010) et Schouler *et al.* (2012) où ils ont enregistrés les taux de 60, 48 et 43,5% respectivement.

Il est bien évident que nos observations sont en concordance avec celles rapportées par plusieurs études antérieures, mais avec des fréquences variables. Cette variabilité pourrait être attribuée, d'une part, à l'utilisation de différentes méthodes de sérotypage, et d'autre part, au nombre variable des isolats étudiés d'une étude à l'autre. On cite à titre illustratif : Blanco et *al.* (1997); Dozois et *al.* (2000); Mellata et *al.* (2003) et Ewers et *al.* (2003).

Pareillement, les premières études menées sur les colibacilles aviaires entreprises par Sojka et Carnaghan (1961) montrent que les sérogroupes les plus fréquents sont O1, O2, O35 et O78. Plus récemment, une étude similaire réalisée sur un total de 112 souches d'*E. coli* isolées de cas de colibacillose au Canada par Dozois et *al.* (1992), ont révélé la présence de 16 types sérologiques, dont O78 et O1 ont enregistré les fréquences les plus élevées.

De même, six groupes (O1, O2, O5, O8, O18 et O78) ont été identifiés sur un total de 460 souches isolées de 1397 poulets en France, en Belgique et en Espagne par Schouler et *al.* (2012). Ainsi, Wang et *al*. (2010) ont pu identifier 53 sérotypes O sur 254 isolats d'APEC, parmi lesquels, O93, O78 et O92 étaient les prédominants. Les autres sérotypes qui peuvent exister de manière significative sont : 8, 15, 18, 35, 88, 109 et 115 comme rapporté par Dho-Moulin et Fairbrother (1999).

Dans notre étude 78% de nos souches appartiennent aux trois sérogroupes O1, O2 et O78. Stordeur et Mainil (2001) rapportent que les sérogroupes les plus répandus et les plus pathogènes sont ceux communiqués dans notre étude (O1, O2 et O78) et représentent de 15 à 61 % des APEC à travers le monde, bien que d'autres soient aussi présents.

Vidotto *et al.* (1990), La Ragione et Woodward (2002) et Mellata *et al.* (2003) rapportent que les souches *E.coli* appartenant le plus souvent aux sérogroupes O1, O2 et O78 possèdent des facteurs de virulence typique des APEC comme le lipopolysaccharide (endotoxine colibacillaire : Effet toxique du lipide A du LPS responsable de la congestion et la coloration foncé des carcasses), la protéine hémagglutinine Tsh et la resistance au sérum et à la phagocytose. Cependant la distribution et les fréquences de ces sérogroupes dominants varient considérablement géographiquement et temporairement comme signalé par Frydendahl (2002) et Gabaral *et al.* (1996).

Mellata *et al.* (2003) rapportent que la capsule K1 qui est associé aux souches O1 et O2 (les sérotypes O1K1 et O2K1) et qui sont dans notre étude de 29,5% et 34,5% respectivement, soit 64% au total dans notre étude, joue un rôle accrue dans la résistance au sérum et à la phagocytose.

La Ragione et Woodward (2002) et Mellata *et al.* 2003 rapportent que les souches APEC porteuses du lipopolysaccharide O1 et O78 qui sont de 29,5% et 14% respectivement, soit 43,5% au total dans notre étude ont la capacité de résistées au sérum et de colonisées les organes internes du poulet.

Les APEC sont responsables de nombreuses formes de colibacillose chez les poulets. Cependant, leur virulence varie profondément. Un certain nombre de facteurs de virulence sont de plus en plus étudiés. Il est de plus en plus reconnu que la possession de certains gènes chromosomiques ou plasmidiques codant pour les facteurs de virulence donne aux APEC une pathogénicité propre en raison de leur capacité à survivre dans l'hôte, comme rapporté par Blanco et *al*. (1997), Stordeur et Mainil (2002) et Stordeur et *al*. (2003).

Lafont et *al*. (1984) et Chulasiri et Suthienkul (1989) ont rapporté que les caractéristiques de *E. coli* virulentes dans des oiseaux et autres animaux sont souvent partagées. Les souches aviaires peuvent être une source de gènes et des plasmides qui codent pour des facteurs de virulence et la résistance aux antimicrobiens. Dziva et *al*. (2013) assurent que les plasmides contribuent de manière significative à la biologie des APEC.

IV. Antibiogramme

Douze antibiotiques sont testés sur chacune des 200 souches d'*Escherichia coli* isolées.

Une lecture impérative est utilisée, qui détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec ceux de la table de lecture des concentrations et diamètres critiques et règles de lecture interprétative en médecine vétérinaire pour *Enterobacteriaceae,* selon les recommandations de la septième édition (2014) du fascicule standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (voir tableau III annexe IV).

La figure 41 montre les deux boites de l'antibiogramme d'une souche *E.coli* après incubation 18 heures à 35 C°.

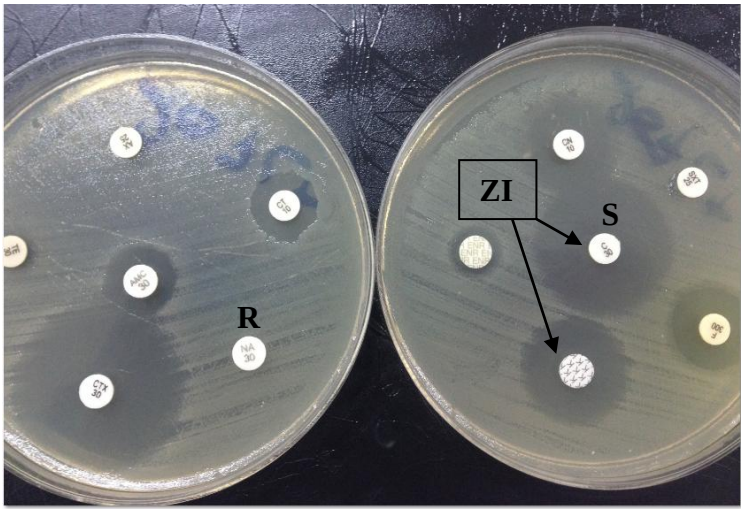


Figure 41 : Antibiogramme d'une souche *E.coli* après incubation 18 h à 35 C°. **ZI** : zone d'inhibition. **S :** Sensible au chloramphénicol **R** : souche résistante à l'acide nalidixique, absence de zone d'inhibition (Photo personnelle)

Les résultats de l'antibiogramme des souches *Escherichia coli* sont présentés dans le tableau global des résultats (voir tableau v annexe VIII).

Le tableau 18 et la figure 42 montrent les pourcentages de résistances des souches *E. coli* isolées lors de notre étude:

Tableau 18 : Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *E. coli.*

Antibiogramme		**Interprétation n=200 (%)**		
Famille	**Antibiotique**	**Résistante**	**Intermédiaire**	**Sensible**
β-lactamines	**Amoxicilline/Ac clavulanic**	156 (78%)	19 (9,5%)	25 (%)
	Ampicilline	167 (83,5%)	13 (6,5%)	20 (%)
	Céfotaxime	6 (3%)	0 (0%)	194 (%)
Aminosides	**Gentamicine**	13 (6,5%)	1 (0,5%)	186 (%)
	Néomycine	67 (33,5%)	31 (15,5%)	102 (%)
Sulfamide	**Trimethoprime/ Sulfaméthoxazole**	155 (77,5%)	3 (1,5%)	42 (%)
Polypeptide	**Colistine Sulfate**	2 (1%)	0 (0%)	198 (%)
Furane	**Nitrofurane**	72 (36%)	19 (9,5%)	109 (%)
Phénicolé	**Chloramphénicol**	46 (23%)	11 (5,5%)	143 (%)
Quinolone	**Acide nalidixique**	192 (96%)	4 (2%)	4 (%)
	Enrofloxacine	134 (67%)	32 (16%)	36 (%)
Cycline	**Tétracyclines**	194 (97%)	3 (1,5%)	3 (%)

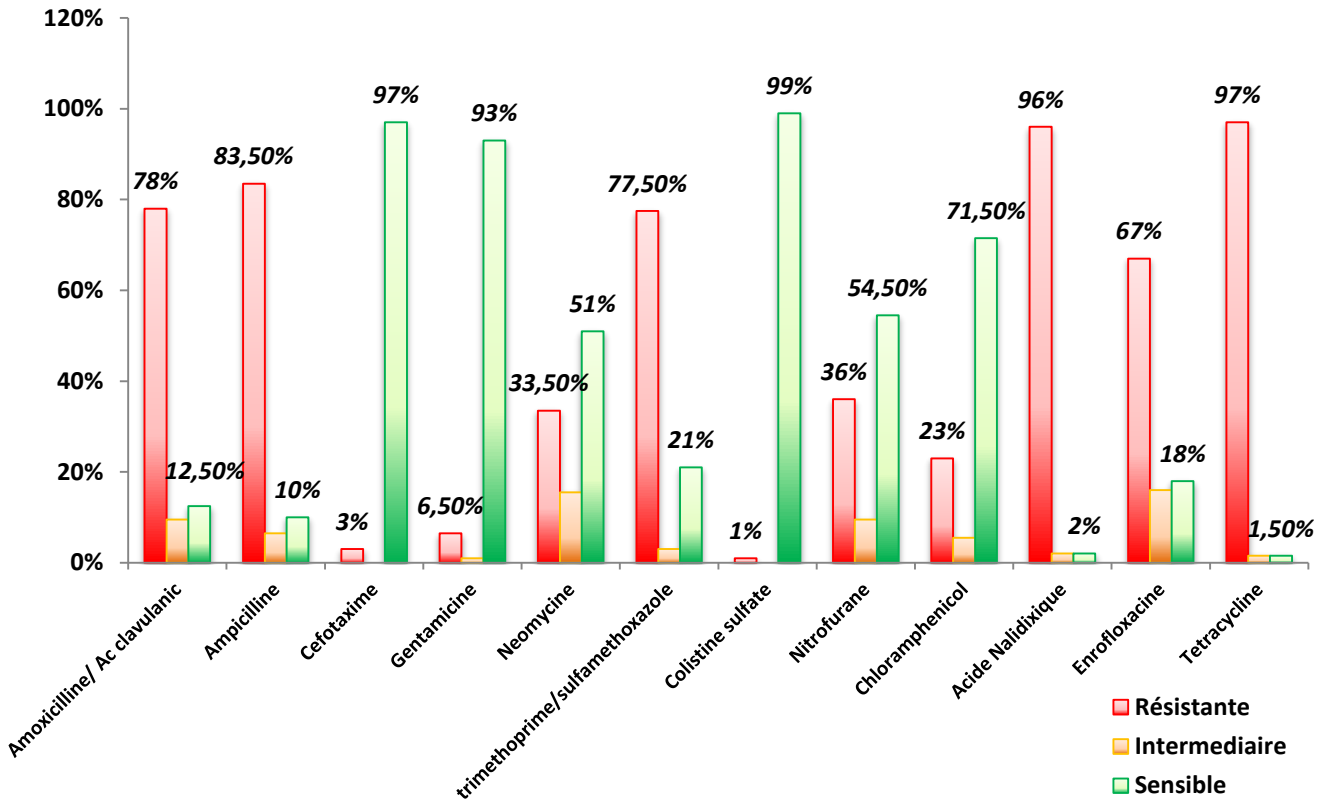


Figure 42 : Pourcentages de résistances des souches *E. coli*.

Vu la diversité des pourcentages, les résultats sont classés en trois groupes, comme préconisé par Saberfar *et al*. (2008).

- Les antibiotiques pour lesquels de très hauts niveaux de résistance sont observés (de 60 à 100%) sont compris dans le Groupe I. Ces antibiotiques sont, par ordre croissant, l'Enrofloxacine (67%), Triméthoprime/Sulfamethoxazole (77,5%), l'Amoxicilline/Ac clavulanic (78%), l'Ampicilline (83,5%), l'Acide nalidixique (96%), et la Tétracycline avec un taux de 97%.

- Le groupe II comprend les antibiotiques pour lesquels des niveaux moyens de résistance (de 20 à 60%) sont obtenus. Ce sont le chloramphénicol (23%) la Neomycine (33,5%) Nitrofurane (36%), Enrofloxacine avec un taux de 67%.

- Le groupe III comprend les antibiotiques pour lesquels des niveaux bas de résistance (de 0 à 20%) sont notés. Ce sont la colistine sulfate avec un taux de 1%, Cefotaxime 3% et la Gentamycine avec un taux de 6,5%.

Tableau 19 : Fréquences d'antibiorésistance dans notre étude et pour d'autres auteurs.

Auteurs	AMP	AUG	TE	NA	ENR	CN	N	CS	C	F	SXT
Notre étude	83,5	78	97	96	67	6,5	33,5	1	23	36	77,5
Blanco *et al.* (1997a). Espagne	35£	/	84	48£	18£	14	14£	0**	25	49	63
Yang *et al.* (2004). Chine	77	/	100	100	90	30£	/	/	24	/	63
Zhao *et al.* (2005). USA	45£	/	87	59£	16£	69£	/	/	11£	/	16£
Zharaei et Farashi (2006). Iran	47£	53£	88	100	76	0**	81£	6**	67£	56£	80
Kim *et al.* (2007). Corée	84,3	/	94,1	/	92,2£	33,3£	/	/	9,8£	/	52,9£
Saberfar *et al.* (2008). Iran	49£	/	96	/	76	12*	87£	100£	52£	/	72
Hammoudi et Aggad (2008). Ouest Algérie	47£	47£	82	/	6£	/	/	3**	/	/	42£
Aggad *et al.* (2010). Ouest Algérie	0£	/	87	/	45£	3**	/	13*£	/	2£	70
Soumaila Garba (2012). Sénégal	81	7£	97	53£	/	5*	7£	/	22	/	67
Messaï *et al.* (2013). Est d'Algérie	84,5	87,5	98,3	96,7	72,2	5,5*	75£	5,5**	45,6£	18,9£	82,2
Rahimi (2013). Iran	95,4	/	98	98,3	93,4£	98,8£	100£	90,4£	98,7£	/	/
Benamer *et al.* (2014). Algérie	/	92,1	90,4	/	69,3	1,8**	/	31,6£	10,5£	/	76,2

Test : Chi^2

£: Différence significative ($p < 0,05$) sur la même colonne.

*: Correction de Yates pour le test Chi^2 (effectif théorique inférieur à 10)

**: Pas de test statistique, manque de conditions pour appliquer un test exact (effectif théorique inférieur à 5)

Dans cette étude, il ressort clairement que les molécules les plus efficaces contres les colibacilles sont ceux qui sont classés dans le groupe III, avec des taux de sensibilité significativement plus élevés par rapport aux autres antibiotiques de différentes familles. Les taux de sensibilité sont de 93,5% pour la gentamycine, 97% pour le céfotaxime et de 99% pour la colistine.

IV.1. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques

IV.1.1. Les β-lactamines

Les résultats mettent en évidence une forte résistance des *E. coli* à cette famille d'antibiotiques, avec des taux de 78% pour l'amoxicilline/Ac clavulanic et de 83,5% pour l'ampicilline. Les deux molécules font partie du premier groupe selon la classification de Saberfar *et al.* (2008).

Ces taux élevés de résistance vis-à-vis de l'amoxicilline/Ac clavulanique et de l'ampicilline sont probablement liés à l'utilisation excessive et anarchique des β-lactamines dans les élevages avicoles. Il existe une diversité de mécanismes de résistances du germe vis-à-vis de cette famille, soit par imperméabilisation, soit par altération des PBP, soit par production de β-lactamases comme rapporté par Quintiliani et Courvalin (1995).

Pour l'amoxicilline / Ac clavulanique, un taux de résistance de 87,8% est obtenu. Ce résultat est significativement élevé ($p < 0,05$) par rapport aux résultats de Soumaila Garba (2012) au Sénégal, de Hammoudi et Aggad (2008), dans une étude à l'Ouest de l'Algérie, et de Zharaei et Farashi (2006) en Iran où ils ont obtenu les taux de 7, 47 et 53% respectivement.

Cependant notre taux est inferieur aux résultats de Messaï *et al.* (2013) dans l'Est Algérien et de Benamer *et al.* (2014) dans l'Ouest où ils ont enregistré 87,5 et 92,1% respectivement.

Pour l'ampicilline, le taux de 83,5% obtenu dans cette étude est significativement plus élevé ($p < 0,05$) que ceux obtenus par Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006) en Iran, Zhao *et al.* (2005) aux Etats-Unis, Hammoudi et Aggad (2008) et Aggad *et al.* (2010) dans la région ouest de l'Algérie, Saberfar *et al.* (2008) en Iran, et par Blanco *et al.* (1997a) en Espagne et qui obtiennent les taux de 47, 45, 47, 0, 49 et 35% respectivement.

Les résultats obtenus dans le cadre de ce travail sont supérieurs à ceux obtenus par Yang *et al.* (2004) en Chine et Soumaila Garba (2012) au Sénégal, avec des taux respectifs de 77 et 81%, mais la différence reste cependant non significative ($p > 0,05$).

Nos résultats sont similaires à ceux de Kim *et al.* (2007), en Corée, qui enregistrent un taux de 84,3%, et légèrement inférieurs à ceux obtenus Messaï *et al.* (2013) dans l'Est Algérien et nettement inferieur a ceux enregistrés par Rahimi (2013) en Iran, mais statistiquement il ne y'a pas de différence significative ($p>0,05$).

IV.1.2. Les tétracyclines

Pour cette famille d'antibiotiques, un taux de résistance de 97% est obtenu vis-à-vis de la tétracycline, installant cette molécule à la première place dans le premier groupe renfermant les taux de résistance les plus élevés.

La persistance et l'augmentation croissante de cette résistante sont attribuées, en partie, à l'usage intempestif de cette famille d'antibiotiques à large spectre et son court délai d'attente dans la viande, mais également à leur incorporation systématique dans l'alimentation des animaux d'élevage destinés à la consommation humaine, et à des doses souvent sub-thérapeutiques, en prophylaxie ou dans le but de stimuler la croissance et d'améliorer le rendement. Cette dernière possibilité est évoqué ya plus de 50 ans, comme cause probable de l'apparition des souches résistantes comme rapporté par Abdennebi (2006).

Les tétracyclines représentent les plus anciennes molécules utilisées, autant en thérapie que préventivement, et même en tant que "facteurs de croissance", engendrant des résistances très élevées en aviculture. En effet, en 1948, toutes les souches sont sensibles aux cyclines, mais, en moins de 10 ans (1956-1957), 9% des souches sont devenues résistantes aux tétracyclines, pour atteindre 29% en 1959-1960 et cette tendance n'a cessé de croître depuis, pour atteindre 94% dans les élevages aviaires espagnols en 1997, comme signalé par Blanco et al. (1997a).

Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006), Zhao *et al.* (2005), Hammoudi et Aggad (2008), Aggad *et al.* (2010), Blanco *et al.* (1997a) en Espagne et Benameur *et al*. (2014) dans l'Ouest Algérie, obtiennent les fréquences de résistance suivantes : 88, 87, 82, 87, 84, et 90,4% respectivement. Ces résultats sont inférieurs à ceux observés dans notre étude, mais statistiquement il ne y'a pas de différence significative ($p>0,05$).

Cependant, nos résultats rejoignent ceux de Yang *et al.* (2004) en Chine, Saberfar *et al.* (2008) en Iran, Kim *et al.* (2007) en Corée, Soumaila Garba (2012) au Sénégal, Messaï *et al.* (2013) dans l'Est d'Algérie et Rahimi (2013) en Iran qui obtiennent 100, 96, 94,1, 97, 98,3 et 98% respectivement. Statistiquement, il n'existe pas de différence significative entre nos résultats et ces différents auteurs ($p > 0,05$).

IV.1.3. Les quinolones

Dans cette étude, la sensibilité des souches isolées est testée vis-à-vis de l'acide nalidixique, quinolone de première génération, et l'enrofloxacine, quinolone de troisième génération. Les taux de résistance sont de 96% pour l'acide nalidixique et de 67% vis-à-vis de l'enrofloxacine.

Nos souches présentent une forte résistance, qui dépasse les 60%, pour les deux molécules de cette famille, ce qui permet de les classer dans le groupe I, de forte résistance Saberfar *et al.*,(2008).

Ces taux très élevés de résistance à cette famille d'antibiotiques peuvent être expliqués, d'une part, par la forte utilisation de ces molécules il y'a plusieurs raisons a cela : (i) l'administration systématique de ces molécules et surtout l'enrofloxacine dès les premiers jours d'élevage des poussins pour prévenir la mortalité due aux omphalites colibacillaire et salmonéllique, en raison des conditions d'hygiène au niveau des couvoirs. Cette idée est très répondue chez nos aviculteurs sans savoir que cette mortalité est souvent normale la première semaine a cause des poussins dit « déchet » qui sont chétifs et affaiblis (poussins de mauvaise qualité) , (ii) une autre raison c'est leur grande disponibilité sur le marché algérien, et surtout par la présence de génériques à prix très abordables, alors qu'il y a quelques années, il n'existait que la molécule mère, très onéreuse; (iii) d'autre part au fait que les quinolones partagent un seul et même mécanisme d'action. Par conséquent, la résistance acquise vis-à-vis de l'une confère automatiquement la résistance aux autres membres de cette famille d'antibiotiques (résistance croisée).

Pour l'acide nalidixique, nos résultats sont significativement plus élevés ($p < 0,05$) que ceux enregistrés aux Etats-Unis par Zhao *et al.* (2005) qui obtiennent un taux de 59%, et en Espagne par Blanco *et al. (*1997a) où ils enregistrent un taux de 48%, et au Sénégal par Soumaila Garba (2012) où l'auteur a enregistré un taux de 53%.

Cependant, on obtient un taux semblable à ceux enregistrés en Iran par Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006), en Chine par Yang *et al.* (2004), dans l'Est d'Algérie par Messaï *et al.* (2013) et en Iran par Rahimi (2013) qui consignent les taux de 100, 100, 96,7 et 98,3% respectivement pour cet antibiotique, mais sans différence significative ($p > 0,05$).

Pour ce qui concerne l'enrofloxacine, nos résultats sont significativement plus élevés ($p < 0,05$) que ceux obtenus par Zhao *et al.* (2005) aux Etats-Unis, dans la région Ouest de l'Algérie par Hammoudi et Aggad (2008) et Aggad *et al.* (2010), et ceux de Blanco et al. (1997a) en Espagne où des taux de 16, 6, 45 et 18% sont respectivement enregistrés.

Par ailleurs, nos résultats sont proches à ceux obtenus en Iran par Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006) et Saberfar *et al.* (2008), en Algérie par Messaï *et al*. (2013) et Benamer *et al.* (2014) où ils ont enregistré les taux de 76,76, 72,2 et 69,3% respectivement.

Nos résultats sont inferieurs à ceux obtenus par Yang *et al.* (2004) en Chine où un taux de 90% a été enregistré, et sont significativement bas par rapport à ceux de Kim *et al.* (2007) en Corée et Rahimi (2013) en Iran où ils ont enregistré les taux de 92,2 et 93,4 % respectivement.

D'après l'étude réalisée en France par Baucheron *et al.* (2003), sur 45 isolats cliniques issus d'une collection de 1.601 souches d'*E. coli* d'origine aviaire et représentatives des phénotypes de résistance aux quinolones, ils est mis en évidence deux mécanismes de résistance : un mécanisme spécifique aux quinolones, ainsi qu'un mécanisme plurispécifique d'efflux conférant une résistance multiple à différentes familles d'antibiotiques.

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

IV.1.4. Les sulfamides

Pour cette famille d'anti-infectieux, la sensibilité des souches est testée vis-à-vis de l'association triméthoprime/sulfaméthoxazole, connue sous le nom commercial de Bactrim®.

Les taux importants enregistrés, autant dans notre étude que par d'autres auteurs, est probablement la conséquence de la très importante prescription de cet anti-infectieux, utilisé

notamment dans la prévention contre les salmonelles, et aussi lors de coccidioses. Cette molécule est utilisée quasi-systématiquement en association avec des anticoccidiens dans le traitement et la prévention de ces dernières, conduisant ainsi à son inefficacité contre les colibacilles.

Nos résultats indiquent un fort taux de résistance vis-à-vis de cette association, de 77,5%, significativement plus élevés ($p < 0,05$) que ceux enregistrés par Hammoudi et Aggad (2008) dans l'ouest Algérien, par Zhao *et al.* (2005) aux Etats-Unis, et par Kim *et al.* (2007) en Corée, où ils obtiennent des taux de 16, 42, 52,9 % respectivement.

Aussi, nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Yang *et al.* (2004) en Chine, Blanco *et al.* (1997a) en Espagne, Soumaila Garba (2012) au Sénégal, Aggad *et al.* (2010) dans l'ouest Algérien, et par Saberfar *et al.* (2008) en Iran, où ils obtiennent respectivement des taux de 63, 63, 67, 70 et 72%, mais statistiquement il n'existe pas de différence significative ($p > 0,05$).

Le taux de 77,5% de notre étude est proche de celui obtenu par Benamer et al. (2014) dans l'ouest d'Algérie.

Nos résultats sont inférieurs à ceux enregistrés par Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006) en Iran et Messaï *et al.* (2013) dans la région Est d'Algérie où ils ont enregistrés les taux de 80 et 82,2% mais statistiquement la différence n'est pas significative ($p > 0,05$).

IV.1.5. Les aminosides

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

Selon Saberfar *et al.* (2008), nos résultats permettent de classer la sensibilité de nos souches vis-à-vis de la néomycine dans le groupe II de moyenne résistance, avec un taux de résistance de l'ordre de 33,5%. Un taux 6,5%, de resistance vis-à-vis de la gentamicine qui la place dans le groupe III de faible résistance.

Le taux de 33,5% vis-à-vis de la néomycine est dû à l'utilisation réfléchie de cet antibiotique dans les élevages aviaires. La forte sensibilité des souches *E. coli* vis-à-vis de la gentamicine est due à la non utilisation de cet antibiotique dans les élevages avicoles de poulet de chair et donc pas de sélection de souches résistantes.

En pratique, il existe des contraintes quant à son utilisation : dans certains pays, comme l'Iran, la gentamicine n'existe que sous forme injectable (très récemment en poudre), forme inintéressante pour les éleveurs car l'administration de ce produit requiert une main-d'œuvre spécialisée qui coûte cher. De plus, la manipulation des sujets provoque un stress et peut rendre la situation délicate. Les injections ne sont pas tolérées chez le poulet, spécialement lors de colibacillose, comme rapporté par Saberfar *et al.* (2008), d'où aucune résistance n'est signalée par Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006) en Iran vis-à-vis de la gentamicine.

Pour la néomycine, nos résultats sont significativement plus élevés ($p < 0,05$) que ceux obtenus au Sénégal par Soumaila Garba (2012) et Espagne par Blanco *et al.* (1997a), où ils enregistrent les taux de 7 et 14% respectivement.

Nos résultats sont significativement bas à ceux rapportés en Algérie par Messaï *et al.* (2013) et en Iran par Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006), Saberfar *et al.* (2008) et Rahimi (2013) où ils enregistrent des taux de 75, 81, 87 et 100% respectivement.

Pour la gentamicine nous avons enregistré un taux de 6,5%. Ce taux est élevé par rapport à ceux enregistrés par Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006) en Iran, par Benamer et al. (2014) et Aggad *et al.* (2010) dans l'ouest Algérien, par Soumaila Garba (2012) au Sénégal et par Messai *et al.* (2013) dans l'Est Algérien où ils ont enregistrés les taux de 0, 1,8, 3, 5 et 5,5% respectivement.

Par ailleurs, nos résultats sont bas par rapport à ceux rapportés par Saberfar *et al.* (2008) en Iran et Blanco *et al.* (1997a) en Espagne, où ils ont enregistrés des taux de résistance de 12 et 14% respectivement vis-à-vis de cet antibiotique. Quoi qu'élevé par rapport au nôtre, statistiquement la différence n'est pas significative ($p > 0,05$).

Cependant nos résultats sont significativement bas ($p<0,05$) par rapport à ceux rapportés par Yang *et al.* (2004) en Chine, Kim *et al.* (2007) en Corée, Zhao *et al.* (2005) dans les Etats-Unis et par Rahimi (2013) en Iran où les taux de 30, 33,3, 69 et 98,8% ont étaient enregistrés respectivement.

V.1.6. Les polypeptides

La sensibilité des souches est testée vis-à-vis de la molécule type de cette famille d'antibiotiques qui est la colistine ou polymyxine E. Les résultats indiquent une faible résistance vis-à-vis de cette molécule, avec un taux de 1%.

Ce faible taux de résistance peut être expliqué par l'utilisation modérée et réfléchie de cette molécule en élevage avicole dans la région étudiée car elle ne franchit pas la barrière intestinale et est donc inactive *per os* sur les colibacilles systémiques. Elle est cependant utilisée en association avec les β-lactamines car cette association procure un effet synergique et peut aider à la maîtrise des colibacilles pathogènes respiratoires encore en situation intestinale.

D'autre part, les résistances des bactéries Gram négatif sont rares vis-à-vis de la colistine, voire exceptionnelles, et sont de type chromosomique (la mutation chromosomique est un phénomène rare donc peu de résistance) comme rapporté par Garnacho-Montero *et al.* (2003).

Le taux enregistré dans cette étude est significativement plus bas ($p < 0,05$) que ceux obtenus dans l'ouest Algérien par Aggad *et al.* (2010), Benamer *et al.* (2014), et en Iran par Rahimi (2013), et par Saberfar *et al.* (2008), où sont enregistrés des taux respectifs de 13, 31,6% et 90,4, 100%.

Cependant, des taux similaires aux nôtres sont rapportés dans les études de Hammoudi et Aggad (2008) dans l'ouest algérien, Messaï *et al.* (2013) dans l'Est d'Algérie, et par Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006), en Iran, où sont enregistrés des taux respectifs de 3, 5,5 et 6%. Blanco et al. (1997a), en Espagne, ne signalent aucune résistance vis-à-vis de cette molécule. Statistiquement, il n'existe pas de différence significative ($p > 0,05$).

IV.1.7. Les phénicolés

La sensibilité des souches *E. coli* isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de la molécule la plus ancienne de cette famille, le chloramphénicol. Nous enregistrons un taux de résistance modéré de 23%.

Ce médicament n'est plus sur le marché officiel. Ce taux relativement élevé, serait donc le fait de la persistance d'une résistance acquise antérieurement, d'une résistance "croisée" ou plus vraisemblablement à une utilisation illégale de cet antibiotique.

Le taux obtenu dans cette étude est significativement plus élevé ($p < 0,05$) que ceux enregistrés par Kim *et al.* (2007) en Corée, par Benamer *et al.* (2014) dans la région Ouest d'Algérie, et par Zhao *et al.* (2005) aux Etats-Unis, où ils obtiennent les taux de 9,8, 10,5 et 11% respectivement.

Des taux semblables au notre ont été enregistrés par Soumaila Garba (2012) au Sénégal, par Yang *et al.* (2004) en Chine, et par Blanco *et al.* (1997a) en Espagne où les taux sont de 22, 24 et 25% respectivement.

Cependant nos résultats sont significativement inferieurs ($p < 0,05$) à ceux enregistrés par Messaï *et al.* (2013) en Algérie, en Iran par Saberfar *et al.* (2008), Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006) et Rahimi (2013), où ils obtiennent respectivement des taux de 45,6, 52, 67 et 98,7%.

IV.1.8. Les furanes

La sensibilité de nos souches est testée vis-à-vis du nitrofurane pour lequel le taux de résistance est de 36%. Cet antibiotique ayant été retiré de la nomenclature vétérinaire, tout laisse supposer que la résistance observée est le fruit d'une résistance croisée. Elle aurait dans ce cas un support plasmidique du fait de l'émergence rapide de souches porteuses de plasmides de multirésistance aminoglycoside et nitrofurane, ou plus vraisemblablement à une utilisation illégale de cet antibiotique.

Ce taux est significativement plus élevé ($p < 0,05$) par rapport aux taux obtenus en Algérie par Aggad *et al.* (2010) et Messaï *et al.* (2013) qui sont de 2 et 18,9%.

En Iran, un taux significativement plus élevé ($p < 0,05$) que le nôtre, de l'ordre de 56%, est rapporté par Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006). Ainsi qu'en Espagne par Blanco *et al.* (1997a) où ils enregistrent un taux de 49%, mais statistiquement y'a pas de différence significative.

IV.2. Les multirésistances

Le tableau 20 ainsi que la figure 43 montrent les fréquences de multirésistance enregistrées pour chaque nombre d'antibiotique :

Tableau 20 : Pourcentages de multirésistance des souches *E. coli* aux antibiotiques.

Nombre d'antibiotiques	Nombre de souches résistantes n= 200	Pourcentage de souches résistantes (%)
2	5	2,5
3	15	7,5
4	26	13
5	25	12,5
6	41	20,5
7	40	20
8	32	16
9	10	5
10	4	2
11	0	0
12	0	0
Total	**198**	**99**

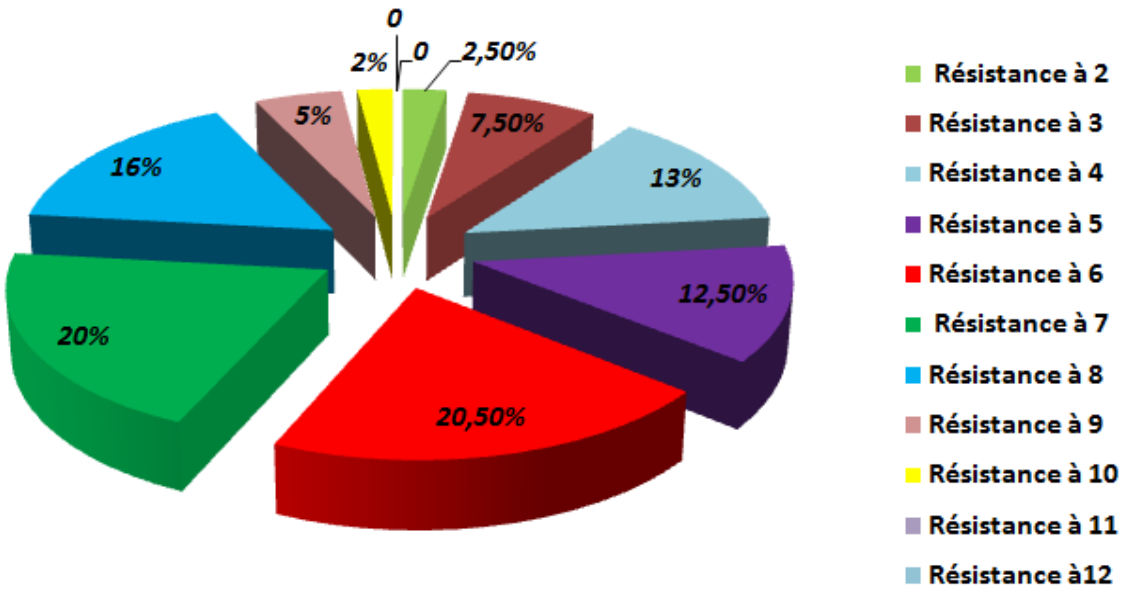


Figure 43 : Pourcentages de multirésistance des souches *E. coli* isolées.

Les souches *E. coli* qui manifestent une multirésistance vis-à-vis de 3, 4, 5, 6, 7 et 8 antibiotiques sont les plus présentes, avec des taux de 7,5, 13, 12,5, 20,5, 20 et 16% respectivement.

Le tableau 21 montre les fréquences de multirésistances cumulées dan notre étude et pour autres auteurs. Ainsi 198 souches soit 99% sont résistantes à au moins deux antibiotiques, et que 96,5% sont résistantes à au moins trois antibiotiques, 89% à au moins 4 antibiotiques. Plus des trois quarts (76%) des souches sont résistantes à au moins 5 antibiotiques, plus de la moitié (63,5%) à au moins 6 antibiotiques, et plus du tiers (43%) des souches sont résistantes à au moins 7 antibiotiques.

Tableau 21 : Fréquence cumulées de multirésistance dans notre étude et pour divers auteurs.

Nombre d'antibiotiques / Auteurs	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nos résultats (%)	99	96,5	89	76	63,5	43	23	7	2
Zhao *et al.* (2005) (%)	/	87	/	67	/	/	32	/	/
Saberfar *et al.* (2008) (%)	/	/	100	99	/	/	/	/	/
Hammoudi et Aggad (2008) (%)	92	67£	22£	10£	/	/	/	/	/
Aggad *et al.* (2010) (%)	72£	45£	9£	4£	/	/	/	/	/
Messaï *et al.* (2013) (%)	100	98,9	93,9	87,2	83,3	75,5£	56,1£	32,8£	8,4*
Benameur *et al.* (2014) (%)	99,12	93,86	82,82	63,52	24,92£	2,12£	/	/	/

Test : Chi^2
£: Taux significativement élevé ou bas ($p < 0,05$) sur une même colonne.
*** :** Correction de Yates.

IV.2.1. Résistance vis-à-vis de deux antibiotiques et plus

99% de nos souches sont résistantes à deux antibiotiques et plus. Ce résultat concorde avec ce qui est enregistré en Algérie par Messaï *et al.* (2013) et Benameur *et al.* (2014) où toutes les souches sont résistantes à deux antibiotiques et plus.

Nos résultats sont élevés par rapport à ceux rapporté par Hammoudi et Aggad (2008) dans la région de l'Ouest algérien, ces auteurs enregistrent un taux de 92% de multirésistance,

quoique ce taux soit bas par rapport au nôtre, statistiquement il n'existe pas de différence significative ($p > 0,05$). Un taux significativement plus bas que le nôtre est enregistré dans l'Ouest par Aggad *et al.* (2010), il est de 72%.

IV.2.2. Résistance vis-à-vis de trois antibiotiques et plus

Pour la résistance à trois antibiotiques et plus, notre résultat de 96,5% est significativement plus élevé ($p < 0,05$) que ceux enregistrés dans la région de l'Ouest algérien par Aggad *et al.* (2010), et Hammoudi et Aggad (2008), où les taux sont de 45 et 67% respectivement.

Nos résultats sont aussi élevés par rapport à ceux enregistrés par Zhao *et al.* (2005) dans les États-Unis, il est de 87, mais sans différence significative ($p > 0,05$).

Cependant, des résultats similaires aux nôtres sont rapportés en Algérie par Messaï *et al.* (2013) et Benameur *et al.* (2014) où les taux sont de 98,9 et 93,86% respectivement.

IV.2.3. Résistance vis-à-vis de quatre antibiotiques et plus

Pour la résistance à quatre antibiotiques et plus, notre résultat de 89% est significativement plus élevé ($p < 0,05$) que ceux enregistrés par Aggad *et al.* (2010) et par Hammoudi et Aggad (2008) dans l'Ouest Algérien, où les taux sont de 9 et 22% respectivement. Et élevé par rapport à celui enregistré par Benameur *et al.* (2014) qui est de 82,82%, statistiquement il ne y'a pas de différence significative ($p> 0,05$).

Cependant nos résultats sont inferieurs à ceux par Messaï *et al.* (2013) en Algérie et par Saberfar *et al.* (2008) en Iran où les taux sont de 93,9% et 100% respectivement, statistiquement il ne y'a pas de différence significative ($p>0,05$).

IV.2.4. Résistance vis-à-vis de cinq antibiotiques et plus

Pour la résistance à cinq antibiotiques et plus, notre résultat de 76% est significativement plus élevé que ceux rapportés par Aggad *et al.* (2010) et par Hammoudi et Aggad (2008) dans l'Ouest Algérien, où ils enregistrent des taux de 4 et 10% respectivement.

Nos résultats sont élevés par rapport aux taux obtenus par Zhao *et al.* (2005) aux Etats-Unis et Benameur *et al.* (2014) dans la région ouest de l'Algérie. Ces taux sont de 67 et

63,52% respectivement. Statistiquement, cependant, la différence n'est pas significative (p > 0,05).

Nos résultats sont inférieurs à ceux enregistrés en Algérie par Messaï *et al.* (2013), et en Iran par Saberfar *et al.* (2008) où les taux sont de 87,2 et 99% respectivement, mais statistiquement y'a pas de différence significative.

IV.2.5. Résistance vis-à-vis de six antibiotiques et plus

Pour la résistance à six antibiotiques et plus, le taux de 63,5% enregistré dans notre étude est significativement élevé par rapport à ce qui est rapporté en Algérie par *Benameur et al.* (2014) où il est de 24,92%.

Notre résultat est bas par rapport au taux de 83,3% enregistré en Algérie par *Messaï et al.* (2013). Statistiquement il ne y'a pas de différence significative (p>0,05).

IV.2.6. Résistance vis-à-vis de sept antibiotiques et plus

Pour la résistante à sept antibiotiques et plus, le taux de 43% enregistré dans notre étude est significativement plus élevé par rapport à celui enregistré par Benameur *et al.* (2014) dans la région de l'ouest d'Algérie où il est de 2,12%, et il est significativement bas par rapport à celui enregistré par Messaï *et al.* (2013) dans la région Est de l'Algérie où il est de 75,5%.

IV.2.7. Résistance vis-à-vis de huit antibiotiques et plus

Pour la resistance à huit antibiotiques et plus, le taux de 23% enregistré dans notre étude est significativement bas par rapport à celui enregistré en Algérie par Messaï *et al.* (2013), il est de 56,1%. Notre résultat est bas par rapport à celui enregistré par Zhao *et al.* (2005) dans les États-Unis qui est de 32% mais statistiquement cette différence n'est pas significative (p>0,05).

Cette forte multirésistance peut être due à l'utilisation anarchique, abusive et irraisonnée des antibiotiques dans le secteur avicole, sans recours préalablement à l'antibiogramme. Lafont *et al.* (1984), et Chulasiri et Suthienkul (1989) rapportent que les caractéristiques des souches *E. coli* aviaires sont souvent identifiées chez d'autres souches

E. coli isolées d'autres animaux. De ce fait, les souches *E. coli* aviaires peuvent être une source potentielle de transmission de gènes et plasmides qui codent pour la résistance aux antibiotiques, ainsi que des facteurs de virulence.

Cette forte multirésistance est inquiétante car elle présente un énorme risque pour l'élevage industriel avicole lors de transmissions plasmidiques des résistances d'une bactérie à une autres, d'où des échecs aux traitements, et par conséquent diminution de la production à cause de taux de morbidité et de mortalité élevés.

IV.3. Les antibiotypes (les profils de résistances, phénotypes)

Dans notre étude, 62 antibiotypes différents sont isolés, dont les plus importants sont rapportés dans le tableau 22. Parmi les 62 profils de multirésistance obtenus dans notre étude, 15, désignés de A à O, attirent l'attention particulièrement, dont les plus importants sont : le profil D avec 5%, le profil E un taux de 7%, le profil F avec un taux de 10,5%, les profils G, I et K avec un taux de 6,5%, le profil L avec un taux de 4,5%.

Tableau 22 : Principaux antibiotypes d'*E coli* isolés.

Antibiotypes	Désignation	Nb de souches	Pourcentage (%)
NA-TE	A	4	2
F-NA-TE	B	4	2
SXT-NA-ENR-TE	C	6	3
AUG-AMP-NA-TE	D	10	5
AUG-AMP-SXT-NA -TE	E	14	7
AUG-AMP-SXT-NA-ENR-TE	F	21	10,5
AUG-AMP-SXT-F-NA-ENR-TE	G	13	6,5
AUG-AMP-SXT-C-NA-ENR-TE	H	8	4
AUG-AMP-N-SXT-NA-ENR-TE	I	13	6,5
AUG-AMP-N-SXT-C-NA-ENR-TE	J	6	3
AUG-AMP-N-SXT-F-NA-ENR-TE	K	13	6,5
AUG-AMP-SXT-F-C-NA-ENR-TE	L	9	4,5
AUG-AMP-N-SXT-F-C-NA-ENR-TE	M	6	3
AUG-AMP-CN-SXT-F-C-NA-ENR-TE	N	4	2
AUG-AMP-CN-N-SXT-F-C-NA-ENR-TE	O	4	2

Parmi les vingt-six souches (13%) qui expriment une résistance vis-à-vis de 4 antibiotiques, dix d'entre elles manifestent une résistance vis-à-vis des antibiotiques suivants : amoxicilline / ac clavulanique, ampicilline, acide nalidixique et tétracycline, et appartiennent à l'antibiotype **D** présent avec un taux de 5%. Aussi, six souches manifestent une résistance vis-à-vis de : Triméthoprime/sulfaméthoxazole, acide nalidixique, enrofloxacine et tétracycline et font partie de l'antibiotype **C** avec un taux de 3%. Les dix souches restantes expriment des profiles uniques et différent qui ne sont pas mentionnés dans le Tableau 16.

Parmi les vingt-cinq souches (12,5%) qui expriment une résistance vis-à-vis de 5 antibiotiques, treize souches présentent une résistance vis-à-vis des antibiotiques suivants : amoxicilline/acide clavulanique, ampicilline, trimethoprime/sulfaméthoxazole, acide nalidixique, tétracycline et appartiennent à l'antibiotype **E** présent avec un taux de 7%.

Parmi les quarante et une souches (20.5%) qui expriment une résistance vis-à-vis de 6 antibiotiques, vingt et une souches manifestent une résistance vis avis des molécules suivantes : amoxicilline/ acide clavulanique, trimethoprime/sulfaméthoxazole, acide nalidixique, tétracycline et appartiennent à l'antibiotype **F** avec un taux de 10,5%.

Parmi les quarante souches (20%) qui expriment une résistance vis-à-vis de 7 antibiotiques, treize d'entre elles manifestent une résistance vis-à-vis des molécules suivantes : amoxicilline/ acide clavulanique, ampicilline, trimethoprime/ sulfaméthoxazole, **nitrofurane**, acide nalidixique, enrofloxacine, tétracycline et appartiennent à l'antibiotype **G** présent avec un taux de 6,5%. Aussi huit de ces souches expriment une résistance vis-à-vis des molécules suivantes : amoxicilline/ acide clavulanique, ampicilline, trimethoprime/ sulfaméthoxazole, **chloramphénicol,** acide nalidixique, enrofloxacine, tétracycline et appartiennent à l'antibiotype **H** présent avec un taux de 4%. Et treize de ces souches appartiennent à l'antibiotype I présent avec un taux de 6,5% qui manifestent une resistance vis-à-vis de : amoxicilline/ acide clavulanique, ampicilline, **néomycine,** trimethoprime/ sulfaméthoxazole, acide nalidixique, enrofloxacine, tétracycline.

Parmi les trente-deux souches (16%) qui expriment une résistance vis-à-vis de 8 antibiotiques, treize de ces souches manifestent une résistance vis-à-vis des molécules suivantes : amoxicilline/ acide clavulanique, ampicilline, **néomycine**, trimethoprime/ sulfaméthoxazole, **nitrofurane,** acide nalidixique, enrofloxacine, tétracycline et appartiennent à l'antibiotype **K** avec un taux de 6,5%.

Et neuf d'entre elles expriment une résistance vis-à-vis de : amoxicilline/ acide clavulanique, ampicilline, trimethoprime/ sulfaméthoxazole, **nitrofurane, chloramphénicol,** acide nalidixique, enrofloxacine, tétracycline et appartiennent à l'antibiotype **L** présent avec un taux de 4,5%.

Les six souches qui reste appartiennent à l'antibiotype **J** avec un taux de 3%, et qui manifestent les resistance vis-à-vis de : amoxicilline/ acide clavulanique, ampicilline, **néomycine,** trimethoprime/ sulfaméthoxazole, **chloramphénicol,** acide nalidixique, enrofloxacine, tétracycline.

Parmi les dix souches soit (5%) qui expriment une résistance vis-à-vis de 9 antibiotiques, six de ces souches manifestent une resistance vis-à-vis des molécules suivantes : amoxicilline/ acide clavulanique, ampicilline, **néomycine,** trimethoprime/ sulfaméthoxazole, nitrofurane**,** chloramphénicol, acide nalidixique, enrofloxacine, tétracycline, et appartiennent à l'antibiotype **M** avec un taux de 3%.

Et quatre de ces souches manifestent une resistance vis-à-vis des molécules suivantes : amoxicilline/ acide clavulanique, ampicilline, **gentamicine,** trimethoprime/ sulfaméthoxazole, nitrofurane, chloramphénicol, acide nalidixique, enrofloxacine, tétracycline, et appartiennent à l'antibiotype **N** avec un taux de 2%.

Les quatre souches soit 2% qui expriment une resistance vis-à-vis de 10 antibiotiques, toutes ces souches manifestent une résistance vis-à-vis de amoxicilline/ acide clavulanique, ampicilline, **gentamicine, néomycine,** trimethoprime/ sulfaméthoxazole, **nitrofurane**, **chloramphénicol,** acide nalidixique, enrofloxacine, tétracycline, et appartiennent à l'antibiotype O avec le même taux qui est de 4%.

Ces résultats reflètent l'utilisation abusive et anarchique de ces produits en raison de leur large disponibilité sur le marché algérien, en l'absence de législation réglementant leur utilisation à titre thérapeutique et préventif. Ainsi, plusieurs antibiotiques sont utilisés couramment à titre préventif et curatif, sans recours à l'antibiogramme pour choisir la molécule la plus efficace contre le germe en cause.

Aussi, nous mettons en évidence une co-résistance vis-à-vis de l'amoxicilline/ acide Nalidixique, ampicilline, triméthoprime/sulfaméthoxazole, acide nalidixique, enrofloxacine et tétracycline existant dans 10 des 15 profils de multirésistance les plus importants. Presque de la moitié des souches *Escherichia coli* (48,5%) expriment cette co-résistance.

Selon Courvalin (2008), la conséquence de cette organisation génétique est la co-sélection : une classe d'antibiotiques à laquelle la bactérie est résistante pourra sélectionner la résistance à des classes d'antibiotiques non reliées, engendrant ainsi un large phénotype résistant de la bactérie.

Il faut tenir compte du danger des souches *E. coli* exprimant les profils F, G, H, I, J, K, L, M, O avec des taux 10,5, 6,5, 4, 6,5, 3, 6,5, 4,5, 3, 2 et 2% respectivement. Ces souches manifestent une résistance vis-à-vis de 6, 7, 7, 7, 8, 8, 8, 9, 9, 10 antibiotiques respectivement, même vis-à-vis des antibiotiques les plus actifs sur les colibacilles comme la gentamicine, nitrofurane, et le chloramphénicol.

Ces souches peuvent transférer leur large phénotype d'antibiorésistance par transmission verticale à leur descendance et par transmission horizontale à des espèces différentes de bactéries via l'échange de matériel génétique, permettant la diffusion de ces profils et réalisant la transmission épidémique de cette multirésistance.

Le foie des volailles est comestible dans notre société, Willis (2000) et Dos Santos *et al.* (2013) ont rapporté que les denrées alimentaires d'origine animales, y compris le poulet sont parmi les sources les plus importantes de développement de bactéries multirésistantes en raison de l'utilisation continue des antibiotiques comme additifs alimentaires et comme facteurs de croissances à des doses sub-thérapeutique.

Lalzampuia *et al.* (2014) ont signalé que cette pratique peut conduire à la sélection d'une population résistante dans le microbiote indigène de l'animal et l'environnement local en raison de l'excrétion par les fientes de ces microorganismes, ces bactéries multirésistantes peuvent ré-entrer dans les populations humaines et animales par diverses voies, y compris l'eau naturelle, l'eau d'irrigation, l'eau potable, les légumes et les aliments.

Van Den Bogaard *et al.* (2001) ont isolé des souches *E. coli* chez les humains qui travaillent en promiscuité avec les oiseaux -les aviculteurs et le personnel des abattoirs- exprimant les mêmes antibiotypes que les souches aviaires. Cette trouvaille indique que la transmission de la résistance des souches *E.coli* aviaires aux souches humaines est possible.

La contamination de l'homme par ces bactéries multirésitantes (par exemple lors d'opération d'abattage) constituera l'une des causes majeures des difficultés de traitement chez l'homme.

V. La recherche phénotypique des souches *E.coli* productrices de betalactamase à spectre étendu

Toutes les souches, 200 *E.coli* isolées lors de notre étude ont été testées pour la recherche de la betalactamase à spectre élargie (BLSE). La mise en évidence de cette enzyme (BLSE) de classe A a été effectuée par le test de synergie comme recommandé par Jarlier *et al.* (1988).

Le test consiste à mettre en évidence une synergie qui se traduit sur la boite de pétri par l'apparition d'un bouchon de champagne entre le disque de amoxicilline/ acide clavulanique et une céphalosporine de troisième génération ceftazidime, cefotaxime ou ciprofloxacine et aztreonam, en raison de l'existence de phénotypes de resistance différents (céfotaximase ou céftadizimase) voir figure 44.

Devant l'absence de l'image de synergie, la production de β-lactamase à spectre étendue est suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques de céphalosporines de troisième génération voir figure 45.

La confirmation de ces souches qu'elles sont BLSE est faite par le test de confirmation aussi appelé test du double disque voir figure 46 :

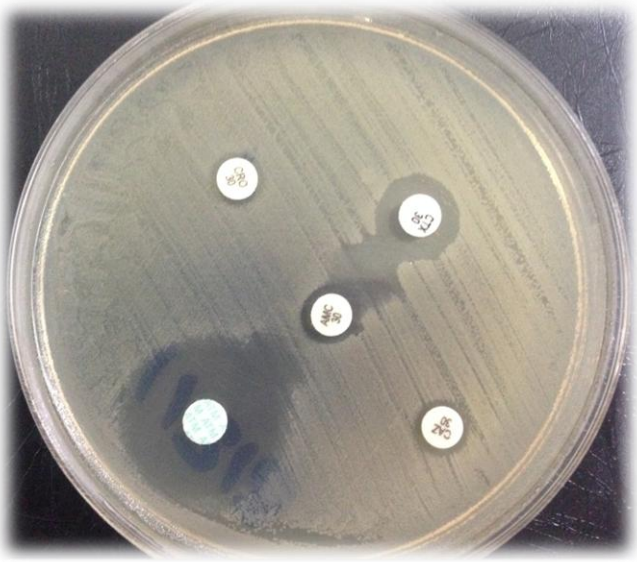


Figure 44 : Souche *E.coli* productrice de β-lactamase à spectre étendu test de synergie (Photo personnelle).

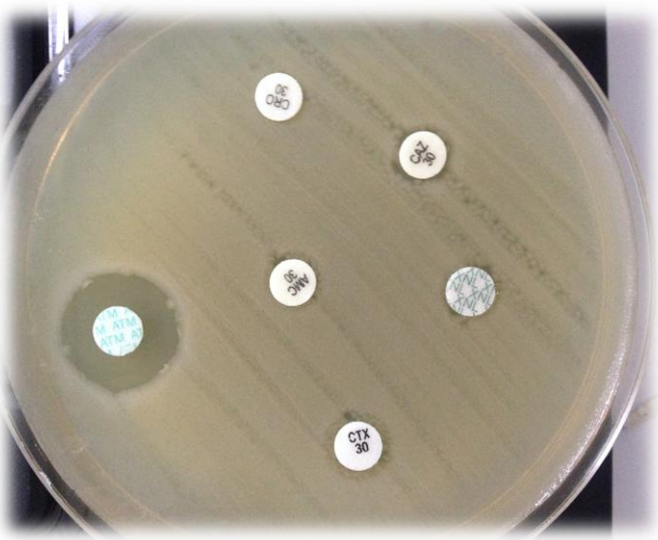


Figure 45: Souche *E.coli* BLSE absence de synergie enter le disque AUG et les disques de C3G (Photo personnelle).

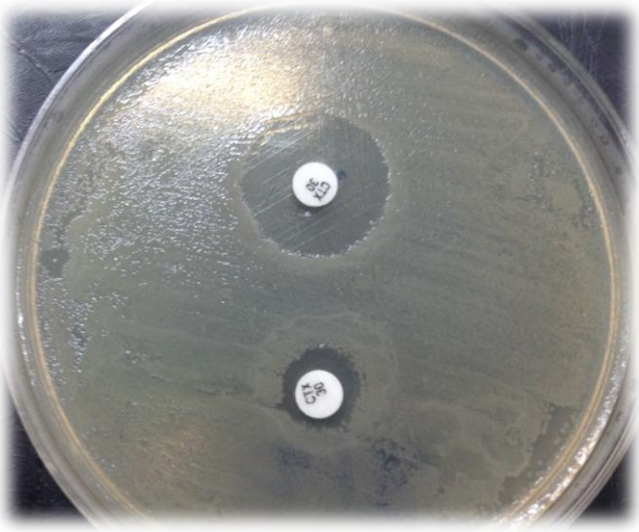


Figure 46 : Souche *E.coli* productrice de β-lactamase à spectre étendu test du double disque positif (Photo personnelle).

Le nombre et les fréquences des souches *E.coli* isolées productrice de β-lactamase à spectre étendu sont représentés dans le tableau 23 et la figure 47 :

Tableau 23 : Fréquence des souches *E.coli* productrices de BLSE.

	Nombre n=200	**Fréquence (%)**
Souches *E.coli* BLSE -	194	97
Souches *E.coli* BLSE +	6	3
Total des souches *E.coli* isolées	200	100

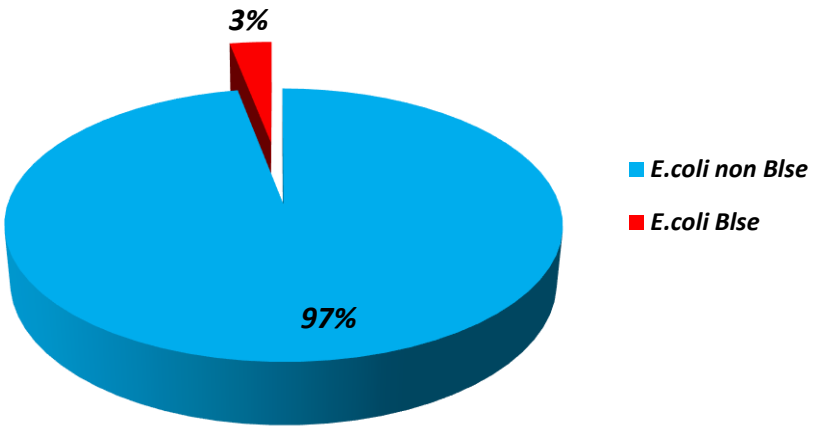


Figure 47: Fréquence des souches *E.coli* productrices de β-lactamase à spectre étendu.

Parmi les 200 souches de *E.coli* isolées dans notre étude, 6 souches ont été détectées phénotypiquement productrice de β-lactamase à spectre étendu de classe A (Inhibées par l'Ac clavulanique), et elles représentent un taux de 3% de l'ensemble de nos souches. Ces souches BLSE de classe A sont donc capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines de 1 ère, 2 ème, 3ème (ex. céfotaxime, ceftazidime, ceftiofur) et 4ème génération (ex. céfépime) génération et les monobactames (ex. aztréonam), mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines (ex. céfoxitine) ni des carbapénèmes (ex. imipénème). Bonnet (2004) rapporte que la production des BLSE est la cause prédominante de la resistance aux betalactamines chez les bactéries gram négatif.

Olsen *et al.* (2014) rapportent que le problème avec les *E.coli BLSE* en relation avec la production avicole n'a pas été spécifiquement abordé, bien qu'il n'est pas certain que les *E. coli BLSE* représentent une menace directe pour la production avicole, les souches *E.coli* BLSE représentent incontestablement un problème majeur en medecine humaine.

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

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

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

Anon (2011), Wasyl *et al.* (2013) ont signalé des fréquences élevées des *E.coli* productrices BLSE en Pologne, les Pays-Bas et en Espagne. Reich *et al.* (2013) ont enregistré des fréquences élevées de souches *E.coli* BLSE isolées à partir des carcasses de poulet de chair en Allemagne.

Lalzampuia *et al.* (2014) ont constaté que la fréquence des souches *E.coli* productrices de BLSE dans les poulaillers industriels intensifs été beaucoup plus élevée par rapport aux élevages en basse-cour, cela est du à l'utilisation fréquente et routinière des céphalosporines de troisième génération dans les élevages industriels.

Tableau 24 : Antibiotypes des souches *E.coli* BLSE isolées.

Souche	Antibiotype	Sérogroupe
N° 52	**CTX**-AUG-AMP-**STX**-F-C-**NA-ENR-TE**	**O2**
N° 92	**CTX**-AUG-AMP-**STX-NA-TE**	**O2**
N° 153	**CTX**-AUG-AMP-**STX-NA-ENR-TE**	**O1**
N° 211	**CTX**-AUG-AMP-**NA-TE**	**O78**
N° 212	**CTX**-AUG-AMP-**NA-TE**	**O78**
N° 213	**CTX**-AUG-AMP-**NA-TE**	**O1**

Nos souches *E.coli* productrices de BLSE sont co-résistances vis-à-vis des quinolones : acide nalidixique et enrofloxacine, et vis-à-vis du triméthoprime/sulfaméthoxazole voir tableau 24, nos observations rejoignent ce qui a été rapporté par Denholm *et al.* (2009) et Randall *et al.* (2010) et Lalzampuia *et al.* (2014).

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

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

VI. La recherche de gènes d'antibioresistance par PCR

La recherche des gènes d'antibiorésistance a concerné particulièrement les isoltas d' *E.coli* ayant été détectés bétalactamase à spectre élargi phénotypiquement, sur la base du test de synergie et du double disque. Les gènes concernés sont : bla$_{tem}$, bla$_{shv}$, bla$_{ctx\ M\ 1}$, bla$_{ctx\ M\ 2}$, bla$_{ctx\ M\ 8}$, *bla*$_{ctx\ M\ 9}$ des principaux groupes phylogenetiques codant pour les enzymes BLSE : TEM, SHV,CTX M1, CTX M2, CTX M8 et CTX M9 respectivement (Bonnet *et al.*, 2000).

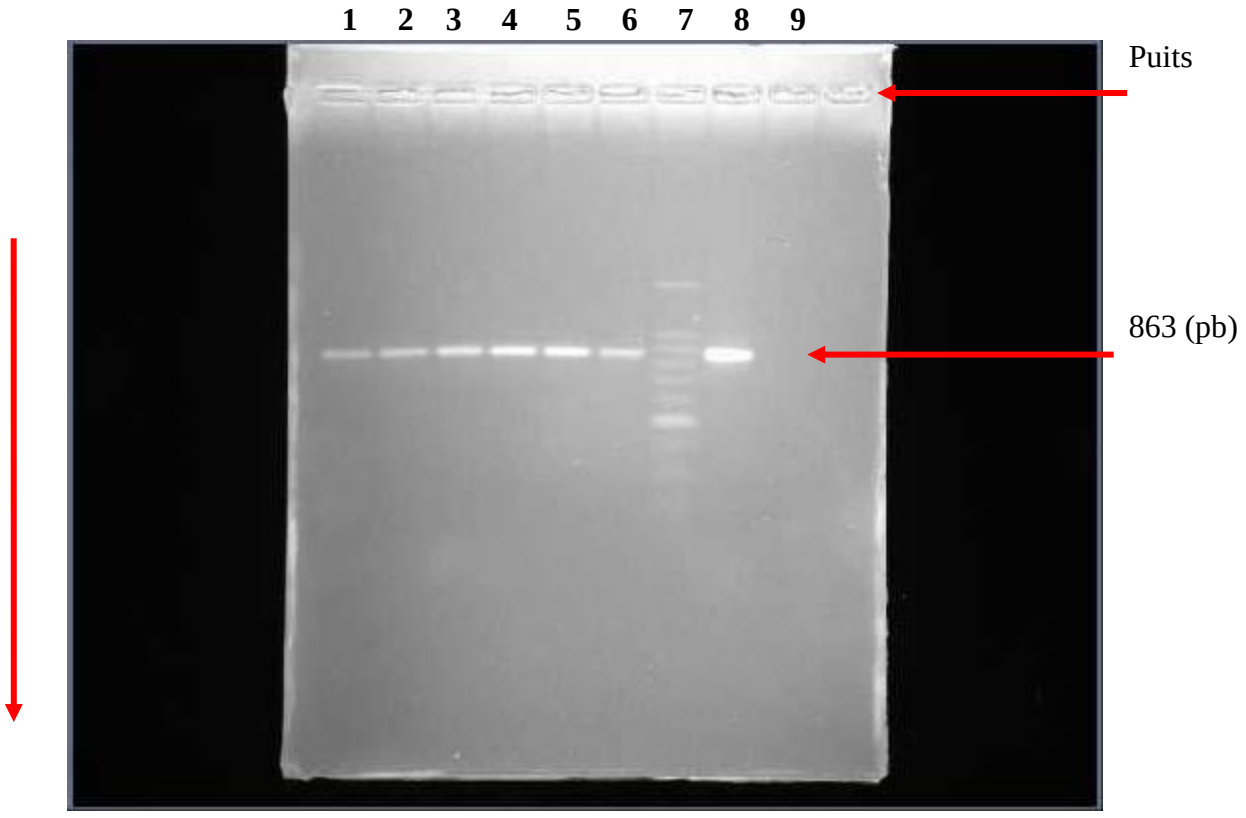


Figure 48 : Profil de migration par électrophorèse sur gel d'agarose du gène bla *ctx* M1 (photo personnelle).

1- S99/16 (153),
2- S100/16 (212)
3- S101/16 (92)
4- S102/16 (52)
5- S103/16 (211)
6- S104/16 (213)
7- Marqueur de Taille 100 pb
8- Souche Témoin *E.coli* U2A 1790 Taille de produit 863 pb
9- Control Mix (négatif)

La figure 48 montre d'électrophorèse du produit de la PCR réalisé pour le gène ctxm1, l'un échantillon est dit positif à un gène lorsqu'une bande fluorescente apparait sur sa zone de migration et lorsque cette bande se situe sur la même ligne horizontale que celle de la bande du gène du contrôle positif (celle-ci est repérée grâce à la taille du produit qui s'exprime en paires de bases).

La recherche par PCR des gènes d'antibiorésistances sur les six souches d'*E.coli* BLSE a dévoilé la présence d'un seul gène « *ctx M1* » (bande située à 863 pb) et absence des gènes *shv, tem, ctx M2, ctx M8 et ctx M9.*

De ce fait, toutes nos souches *E.coli* BLSE (100%) sont porteuses du gène *ctx M1* codant pour l'enzyme CTX-M1 qui hydrolyse préférentiellement le cefotaxime et qui fait partie des BLSE de classe A selon la classification d'ambler, et au groupe fonctionnel 2be selon la classification de Bush-Jacoby-Medeiros. Cependant, toutes nos souches BLSE se sont révélées négatives aux gènes qui codent pour les enzymes SHV, TEM, CTX M2, CTX M8 et CTX M9.

La prévalence des souches *E.coli* BLSE porteuses du gène ***ctx M1*** enregistrée dans notre étude est de 3%. Ce chiffre paraît sensiblement proche de celui rapporté par Lalzampuia et *al.* (2014) où ils ont enregistré un taux de 3,9%. Cependant, Olsen et *al.* (2014) ont enregistré une valeur de 20%, significativement plus élevée que le nôtre tableau 25.

Tableau 25 : Fréquence des gènes BLSE dans notre étude et autre auteurs.

	tem	***shv***	***ctx M1***	***ctx M2***	***ctx M8***	***ctx M9***
Notre étude	0	0	3	0	0	0
Lalzampuia et al. (2014) (%)	0,9**	/	3,9**	/	/	/
Olsen *et al.* (2014) (%)	35$^{£}$	0	20$^{£}$	0	/	/

Chi^2
$^{£}$: Différence significative sur la même colonne ($p<0,05$).
** : test exact.

Pour ce qui est du gène bla *tem,* il y a lieu de signaler que parmi les 6 souches *E.coli* BLSE, aucune n'en était porteuse, Lalzampuia et *al.* (2014) et Olsen et *al.* (2014) ont enregistré la présence de ce gène dans leurs isolats avec des taux évalués respectivement à 0,9% et 35%.

Gniadkowski (2008) rapporte que jusqu'à la fin des années 90, la majorité des BLSE détectées étaient des dérivés de TEM de SHV, et a partir de 1995, de «nouvelles» BLSE (notamment CTX-M) ont émergé de façon explosive chez les entérobactéries et la situation épidémiologique a complètement changé au niveau mondial. Canton et Coque (2006) rapportent qu'en 15 ans, la diffusion mondiale des BLSE de type CTX-M chez les entérobactéries a explosé de façon extrêmement rapide, d'où le terme de «pandémie CTX-M».

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

L'une des premières BLSE cliniques observés chez les animaux a été rapportée par Teshager *et al.* (2000) dans une *E.coli* produisant BLSE de type SHV, isolée d'un chien avec une infection des voies urinaires récurrentes, alors que la première description chez la volaille a été rapporté par Brinas *et al.* (2003) où ils ont isolé des souches *E.coli* productrices des BLSE de types CTX-M-14, SHV-12 et CMY- 2 dans les fientes de poulets sains en Espagne entre 2000 et 2001.

Olsen *et al*. (2014) ont rapporté que, les trois ß-lactamases TEM, SHV et CTX-M sont les enzymes les plus importantes *d'E.coli* BLSE qui colonisent la volaille, la résistance aux céphalosporines de troisième génération est la plus grave, puisque ce groupe d'antibiotiques est actuellement utilisé pour traiter les infections humaines hautement dangereuses.

Bonnedahl *et al.* (2009) dans leur étude qui a porté sur la diffusion des bactéries zoonotiques BLSE, principalement de type CTX-M, dans la région côtière du sud de la France sur les Goélands leucophée sauvages ont rapporté que 9,4% des mouettes sont porteuses de bactéries productrices de BLSE et notamment, 6% des mouettes sont porteuses des bactéries

hébergeant le gène qui code pour l'enzyme BLSE CTX-M-1, les CTX-M qui ont été récemment introduites sont devenus le groupe le plus courant en France,

Le séquençage par (MLST) et la détermination des groupes phylogénétiques ont été établis pour les souches BLSE isolées, les résultats ont révélé que ces oiseaux et les humains partagent les mêmes populations d'*E. coli.* Plusieurs *E. coli* BLSE isolées des oiseaux étaient identiques ou très proches avec les isolats *E.coli* d'origine humaine, la conséquence de cette découverte est que les oiseaux sauvages captent les *E. coli* d'origine humaine, avec les traits de résistance humain, et peuvent donc également agir comme un réservoir environnemental et un creuset de la résistance bactérienne avec un potentiel de réinfecter les populations humaines comme signalé par Bonnedahl *et al.* (2009).

Dierikx *et al.* (2013) dans les pays bas ont rapporté dans leur étude qui a porté sur 26 poulaillers de poulet de chair et 18 aviculteurs, que les oiseaux de toutes les fermes étaient positifs pour *E.coli* BLSE, et dans 22 fermes la prévalence était ≥80%, après séquençage et génotypage des différentes souches d'*E.coli*, les résultats ont révélé que 06 des 18 aviculteurs concernés par l'étude sont porteurs d'isolats *d'E.coli* qui expriment les gènes BLSE / AmpC ; **bla*ctx-m-1***, bla*CMY-2* et / ou blaSHV-12, qui étaient présents dans les échantillons de leurs animaux, et dans cinq de ces isolats humains, les gènes ont été localisés sur des plasmides de la même famille, alors que dans les isolats de deux agriculteurs les gènes ont été transportés par les mêmes sous-types de plasmides que dans les isolats de leurs animaux.

Concernant les BLSE détectées chez les entérobactéries, d'importants changements ont eu lieu depuis ces dernières années il y'a une explosion mondiale des BLSE de type CTX-M avec supplantation des BLSE de type TEM/SHV dans la plupart des pays, changement de la bactérie hôte de *K. pneumoniae/Enterobacter* spp. vers *E. coli* ; augmentation très nette des infections communautaires dues à des bactéries productrices de BLSE. Dans notre étude sur les 200 souches *E.coli* isolées 06 ce sont révélées BLSE et elles hébergent toutes le gène *bla* $_{ctx\ M1}$ qui code pour l'enzyme BLSE CTX-M1, l'émergence de ces souches chez la volaille est due vraisemblablement à l'introduction de céphalosporine de troisième génération en medecine vétérinaire, et constitue un risque réel pour les animaux eux-mêmes et pour les aviculteurs, le personnel des abattoirs et les consommateurs comme appuyer par plusieurs auteurs.

Les pertes économiques causées par les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC) restent encore considérables. Elles sont à l'origine de lourdes pertes substantielles à cause des taux de morbidité et de la mortalité élevés, une diminution des performances qui s'est traduit par des retards de croissances, des déclassements et des saisies de carcasses aux abattoirs et les coûts de l'antibiothérapie engendrés par les différentes formes de la maladie.

A l'heure actuelle, les moyens de lutte sont représentés essentiellement par l'antibiothérapie généralisée et l'application des mesures sanitaires, cette pathologie reste fréquente et l'usage massif et prolongé des antibiotiques augmente les risques d'émergence de bactéries pathogènes résistantes « pression de sélection », de plus l'utilisation anarchique et irraisonnée des antibiotiques par les aviculteurs, sans avis vétérinaire, est une pratique qui devient de plus en plus courante.

C'est précisément dans cette optique que s'inscrit la présente étude, qui se propose d'apporter une contribution à une meilleure caractérisation phénotypique et génotypique des APEC. Pour ce faire, des sujets atteints de colibacilloses aviaires élevés dans 51 poulaillers dans les régions Centre et Est de l'Algérie ont été prélevés des abattoirs avicoles de Sétif, Boumerdes, et Alger, pour être autopsiés en suivant un protocole d'examen nécropsique approfondi, dans le but de dégager les principales images lésionnelles rencontrées. La survenue de la lésion a été confirmée par une culture bactériologique in-vitro.

Sur les sujets autopsiés les lésions de la colibacillose ont pu être distinguées à savoir : l'aérosacculites, la péricardite, la périhépatite et la congestion de la rate avec des taux de 67,7, 76,27, 91,16 et 80% respectivement, ces lésions font pensées à la colibacillose respiratoire et la colisepticémie.

Les méthodes conventionnelles de l'analyse bactériologique ont permis l'isolement et l'identification de l'agent étiologique qui est la bactérie *Escherichia coli* avec une prévalence de 84,74%. Cette valeur dénote de l'insuffisance et du dysfonctionnement de l'organisation de lutte contre ce pathogène.

L'étude des antibiogrammes réalisés sur les 200 souches isolées a mis en évidence une résistance exprimée vis-à-vis de nombreuses molécules d'antibiotiques. Le taux de résistance le plus haut a été observé à l'encontre de la tétracycline (97%), l'acide nalidixique (96%), l'ampicilline (83,5%), l'amoxicilline/ acide clavulanique (78%) et l'enrofloxacine (67%), la triméthoprime/ Sulfaméthoxazole (77,5%). Une résistance moyenne a été enregistrée vis-à-vis de

la nitrofurane (53%) et la néomycine (33,5%).Toutefois, une faible résistance a été exprimée à l'encontre du chloramphénicol (23%) et de la gentamicine (6,5%), et à la colistine (1%).

Les résultats de la sérotypie ont permis d'identifier trois sérogroupes différents O1, O2 et O78, dont 78% de nos souches appartiennent aux souches APEC classiquement les plus pathogènes, en revanche, aucune agglutination n'a été révélée vis-à-vis des 22 % des isolats restants, ce qui témoigne leur appartenance à d'autres groupes sérologiques.

Les isolats ayant présenté une sensibilité réduite à l'encontre de la céfotaxime ont fait l'objet d'une confirmation phénotypique sur la base du test du double disque. Un taux de positivité de 3% a été enregistré. A cet effet, six souches ont été déclarées potentiellement productrices de bétalactamase à spectre élargi de classe A.

La caractérisation génotypique des souches d'*E. coli* BLSE a consisté essentiellement en une recherche par PCR des gènes d'antibiorésistances bla_{tem}, bla_{shv}, $bla_{ctx\ M\ 1}$, $bla_{ctx\ M\ 2}$, $bla_{ctx\ M\ 8}$, $bla_{ctx\ M\ 9}$ codant respectivement pour les enzymes BLSE : TEM, SHV,CTX M1, CTX M2, CTX M8 et CTX M9. Le résultat a dévoilé la dominance d'un seul gène de résistance « *ctx M1* » chez la totalité des souches. Aucun autre gène n'a été décelé. L'émergence des souches *E.coli* productrices de betalactamase à spectre étendu ne sera pas sans conséquence sur la santé animale et humaine.

Il est bien évident de conclure que les résultats de la présente étude affirment nos spéculations sur l'incidence de la maladie qui s'est notablement accrue, et qui reste imputable au développement des méthodes d'élevage intensif dans tous les secteurs de l'aviculture. Cette situation nous amène à nous préoccuper davantage de notre production animale. Les colibacilloses constituent une vraie menace pour la productivité de l'aviculture et pour la santé publique.

Quant aux résultats surprenants de l'antibiorésistance, ce constat alarmant serait expliqué en majeure partie par l'utilisation anarchique et incontrôlée des antibiotiques dans le traitement des infections sans qu'il y ait recours à l'antibiogramme. Il paraît donc primordial de restreindre au minimum la diffusion de résistances bactériennes. L'optimisation de l'utilisation des antibiotiques chez l'homme et l'animal est actuellement une des actions prioritaires proposées par les réunions d'experts scientifiques.

La connaissance des facteurs favorisant l'apparition de ces pathologies et le recours à d'autres moyens de lutte alternatifs contre ces bactéries seraient une nécessité. Ce type d'étude

nous fournira aussi des arguments techniques susceptibles d'alimenter des discussions avec tous les acteurs de la filière avicole, car quelle que soit la stratégie qui sera adoptée par les autorités, elle ne pourra être mise en œuvre que si elle implique l'ensemble des acteurs de la filière.

En vue de réduire les forts taux de résistance individuelle et multiple des souches *E. coli* d'origine aviaire vis-à-vis des molécules d'antibiotiques, responsables des pertes économiques, et afin de rentabiliser l'élevage aviaire, les recommandations suivantes peuvent être émises :

- Organiser l'utilisation des antibiotiques chez les animaux en rendant leur prescription obligatoire par le vétérinaire ;
- Fournir des instructions à l'intention des vétérinaires afin de réduire l'utilisation abusive et erronée des antibiotiques chez les animaux d'élevage ;
- Sensibiliser les éleveurs sur l'utilisation des antibiotiques sans avis vétérinaire ;
- Entreprendre un traitement intuitif en parallèle de l'antibiogramme afin de limiter les pertes économiques si elles sont redoutées, à condition de respecter un protocole diagnostique rigoureux ;
- Réaliser l'antibiogramme afin de prescrire la molécule de choix ;
- Respecter les normes d'ambiance (température, hygrométrie, aération pour éviter l'accumulation des gaz, ammoniac en particulier) et d'hygiène est une nécessité absolue, tant pour des objectifs zootechniques que pour limiter la pression microbienne.

A

Abbot S., O'Connor J, Robin T., Zimmer BL., Janda JM., 2003: Biochemical properties of a newly described Escherichia species, Escherichia albertii. *J Clin Microbiol*, 41: 4852-4854

Abdennebi EH., 2006: Antibactériens en médicine vétérinaire. Actes Editions Maroc, 303 pages

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

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

Aguëro ME., Aron L., DeLuca AG., Timmis KN., Cabello, FC., 1984: A plasmid-encoded outer membrane protein, TraT, enhances resistance of Escherichia coli to phagocytosis. *Infection and Immunity*, 46, 740-746.

Ahmed AmmarY., 2009 : Antibiorésistance des souches E. coli d'origine aviaire. Thèse de magistère. Université ibn Khaldoun de Tiaret. Faculté des sciences agronomiques et vétérinaires. Département des sciences vétérinaires. 71 pages.

Akashi N., Hitotsubashi S., Yamanaka H., Fujii Y., Tsuji T., Miyama A., Joya JE., Okamoto K., 1993: Production of heat-stable enterotoxin II by chicken clinical isolates of Escherichia coli. *FEMS Microbiol Lett* 109:311—316.

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

Ambler RP., 1980: The structure of b-lactamases. Phil. Trans. R. Soc. Lond. Biol. **289:**321-331.

Amghous S., Kheffache H., 2007 : L'aviculture algérienne en milieu rural, quel devenir après la libération des échanges.

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

Archambaud M., 2009 : Les antibiotiques. Laboratoire bactériologie et hygiène CHU Rangueil Toulouse.

B

Babai r., Blum-Oehler G., Stern BE., hacker J., Ron EZ., 1997: Virulence patterns from septicemic Escherichia coli O78 strains. FEMS Microbiol Lett, **149**, 99-105.

Barnes HJ., Lozano F., 1994: Colibacillosis in Poultry. Pfizer Veterinary Practicum, Pfizer Animal Health: Lee's Summit, MO, 45.

Barnes HJ., Vaillancourt JP., Gross WB., 2003: Colibacillosis. In B.W. Calnek (Ed.), Diseases of poultry / edited by Y. M. Saif.-11th ed.(CH:18 pp. 631 - 656). Ames, IA: Iowa State PressA Blackwell Publishing Company.

Baucheron S., Mouline C., Payot S., Cloeckaert A., Chaslus-Dancla E., 2003 : Mécanismes de résistance aux quinolones des Escherichia coli aviaires. INRA. Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours.

Baudry B., Savarino JS., Vial P., Kaper JB., Levie MM., 1990: A sensitive and specific DNA probe to identify enteroaggregative Escherichia coli, a recently discovered diarrheal pathogen. *J Infect Dis,***161:** 1249-1251.

Benameura Q., Guemourb D., Hammoudi A., Aoudia H., Aggad H., Humbletf M-F., Saegermang C., 2014 : Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Chickens in West of Algeria Q. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research. Vol13, No 1, pp 366-370.*

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

Bettelheim KA., 2002: The genus Escherichia. In: M. dworkin .eds., the prokaryotes: an evolving electronic resource for the micribiological community, 3rd edition, Springer-Verlag, New York. http://linkspringernycom/link/service/books/10125/

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

Bhan MK., Raj P., Levine MM, Kaper JB, Bhandari N, Srivastava R, Kumar R., Sazawal S., 1989: Enteroaggregative Escherichia coli associated with persistent diarrhea in a cohort of rural children in India. *J Infect Dis*,**159**: 1061-1064.

Bisgaard M., 1995. Salpingitis in web-footed birds: prevalence, aetiology and significance. Avian Pathol 24:443—452.

Bisgaard M., Dam A., 1981. Salpingitis in poultry. II. Prevalence, bacteriology, and possible pathogenesis in egglaying chickens. *NordVet* 33:81—89.

Blanco JE., Blanco M., Mora A., Blanco J., 1997a: Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. *J Clin Microbiol,* Vol 35, No. 8 p. 2184–2185.

Blanco JE., Blanco M., Mora A., Blanco J., 1997b: Production of toxins (enterotoxins, verotoxins, and necrotoxins) and colicins by VT strains isolated from septicemic and healthy chickens: relationship with in vivo pathogenicity. *J Clin Microbiol,* **35**, 2953- 2957.

Blanco JE., Blanco M., Mora A., Jansen WH., Garcia V., Vasquez ML., Blanco J., 1998: Serotypes of *Escherichia coli* isolated from septicaemic chickens in Galicia (NorthwestSpain). *Vet Microbiol, 61:229*—235.

Bonnedahl J., Drobni M., Gauthier-Clerc M., Hernandez J., Granholm S., Kayser Y., Melhus A., Kahlmeter G., Waldenstrom J., Johansson A., Olsen B, 2009: Dissemination of Escherichia coli with CTX-M Type ESBL between Humans and Yellow-Legged Gulls in the South of France. PLoS ONE 4(6): e5958.

Bonnet R., 2004: Growing group of extended-spectrum β-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother, 48:1-14.

Bonnet R., Sampaio JL., Labia R., De Champs C., Sirot D., Chanal C., Sirot J., 2000 : A novel CTX-M β-lactamase (CTX-M-8) in céfotaxime resistant Enterobacteriaceae isolated in Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother*. 44:1936–1942.

Borne PM., 1998 : les colibacilloses avicoles : des bactéries toujours à l'affut. Afrique Agriculture, 83.

Bousquet-Milou A., 2010: Antibiorésistance : usages vétérinaires des antibiotiques et santé publique, Ecole Nationale Vétérinaires Toulouse.

Bradford PA., 2001: Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*,14:933-51.

Bree A., DHO M., LAFONT JP., 1989: Comparative infectivity for axenic and specific pathogen free chickens of O2 Escherichia coli strains with or without virulence factors. Avian Dis, **33**, 134-139.

Brenner DJ., Krieg BR., Staley JT., Garrity GM., 2005: Bergey's manual of systematic bacteriology, second edition, vol. 2 (the proteobacteria), Springer New-York.

Brinãs L., Moreno MA., Zarazaga M., 2003: Detection of CMY-2, CTXM- 14, and SHV-12 beta-lactamases in Escherichia coli fecal-sample isolates from healthy chickens. Antimicrob Agents Chemother, 47: 2056–2058.

Brugère-Picoux J., 1984: Diagnostique différentiel des affections respiratoires des volailles. Rev médecine vét, 1069-1078.

Bush K., Jacoby GA., Medeiros AA., 1995: A functional classification scheme for β-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrobial Agents and Chemotherap, vol. 39(6):1211–1233.

C

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

Cantón R., Novais A., Valverde A., Machado E., Peixe L., Baquero F., Coque TM., 2008: Prevalence and spread of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect*, 14:144-153.

Cardinale E., Perrier JD., Aidara A., Tall., Coudert C., Colin M., 2002 : Salmonella spp, AFFSA.

Carr D., Shaw D., Halvorson DA., Rings B., Roepke D., 1996: Excessive mortality in market-age turkeys associated with cellulitis. *Avian Dis* 40:736—741.

Chanter N., Hall GA., Bland AP., Parkson KR., 1986: Dysentery in calves caused by an atypical strain of strain of Escherichia coli. Vet. Microbiol. **12**: 241-253.

Chen HD., Frankel G., 2005: Enteropathogenic Escherichia coli: unraveling pathogenisis. FEMS Microbiol. Rev. **29**, 83-98.

Cheville N F., Arp LH., 1978 : Comparative pathologic findings of Escherichia coli infection in birds. *J Am Vet Med Assoc* 173:584—587.

Chulasiri M., Suthienkul O., 1989: Antimicrobial resistance of Escherichia coli isolated from chickens. *Vet Microbiol.* 21, 189—194.

Clark SR., Barnes HJ., Bickford AA., Chin RP, Droual R., 1991: Relationship of osteomyelitis and associated soft-tissue lesions with green liver discoloration in tom turkeys. *Avian Dis* 35:139—146.

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

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

D

Darfeuille-Michaud A., Aubel D., Chauviere G., Bourges A., Servin A., Joly B., 1990: Adhesion of enterotoxigenic Escherichia coli to the human colon carcinoma cell line cacol in culture. Infect. Immun**. 58,** 893-902.

Denholm JT., Huysmans M., Spelman D., 2009: Community acquisition of ESBL-producing *Escherichia coli*: A growing concern. *Med. J. Aust.*, 190(1): 45-46.

Denyer SP., Maillard JY., 2002: Cellular impermeability and uptake of biocide and antibiotics in Gram-negative bacteria. J. Appl. Microbiol. Symposium (Suppl.) 92, 35S-45S.

Dhillon AS., Jack OK., 1996: Two outbreaks of colibacillosis in commercial caged layers. *Avian Dis* 40:742—746.

Dho-Moulin M., Van Den Bosch J.F., Girardeau JP., Bree A., Barat T., Lafont JP., 1990: Surface antigens from Escherichia coli O2 and O78 strains of avian origin. Infect. Immun., 1990, **58**, 740-745.

Dho–Moulin., Fairbrother JM., 1999: Avian pathogenic Escherichia coli (APEC). Vet. Res. **30**, 299-316.

Dierikx C., Van der Goot J., Fabri T., Van Essen-Zandbergen A., Smith H., Mevius D., 2013: Extended-spectrum-b-lactamase- and AmpC-b-lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. J Antimicrob Chemother, 68: 60–67.

Diffou H., 1997: Contribution à l'étude pharmacocinétique de la tilcosine chez le poulet avec un essai clinique sur un cas de l'arthrite staphylococcique. These Doct. Vet. I.A.V. Hassan II, Rabat Maroc.

Diseases, **36**, 398-402.

Dos Santos L., Moura RA., Ramires PA., Pestana de Castro A., Lincopan N., 2013: Current status of extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae* in animals. In: Méndez-Vilas, A., editor. Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education. Formatex Research Center, Badajoz.

Doucet N., 2006: Mutagénèse semi-aléatoire et analyse dynamique de la β-lactamase TEM-1 d'Escherichia coli. Thèse Doctorat en biochimie, Université de Montréal, Canada.

Dozois C.M., Chanteloup N., Dho-Moulin M., Bree A., Desautels C., Fairbrother JM., 1994: Bacterial colonization and in vivo expression of F1 (Type 1) fimbrial antigens in chickens experimentally infected with pathogenic Escherichia coli. Avian Dis, **38**, 231-239.

Dozois CM., Dho-Moulin M., Bree A., Fairbrother JM., Desautels C., Curtis III R., 2000: Relationship between the Tsh autotransporter and pathogenicity of avian Escherichia coli and localization and analysis of the tsh genetic region. Infect. Immun. **68**, 4145-4154.

Dozois CM., Fairbrother JM., Harel J., Bosse M., 1992: Pap- and pil-related DNA sequences and other virulence determinants associated with Escherichia coli isolated from septicemic chickens and turkeys. Infect. Immun. **60**, 2648-56.

Dozois CM., Pourbakhsh SA., Fairbrother JM., 1995: Expression of P and type 1 (F1) fimbriae in pathogenic Escherichia coli from poultry. Vet. Microbiol. **45**, 297-309.

Droual R., Chin RP., Rezvani M., 1996: Synovitis, osteomyelitis, and green liver in turkeys associated with Escherichia coli. *Avian Dis* 40:417—424.

Durso LM., Bono JL., Keen JE. 2005: « Molecular Serotyping of *Escherichia coli* O26:H11 ». Appl Environ Microbiol, 71(8): 4941–4944.

Dziva F., Hauser H., Connor TS., Van Diemen PM, Prescott G., Langridge GC., Eckert S., Chaudhuri RR., Ewers C., Mellata M., Mukhopadhyay S., Curtiss III R., Dougan G., Wieler LH., Thomson NR., Pickard DJ., Stevens MP., 2013: Sequencing and Functional Annotation of Avian Pathogenic *Escherichia coli* Serogroup O78 Strains Reveal the Evolution of *E. coli* Lineages Pathogenic for Poultry via Distinct Mechanisms" I*nfect. Immun.* vol. 81. N(3): 838-849.

E

Edens FW., Parkhurst CR., Qureshi MA., Casas IA., Havenstein GB., 1997a: Atypical Escherichia coli strains and their association with poult enteritis and mortality syndrome. *Poult Sci* 76:952—960.

Edens FW., Qureshi RA., Parkhurst CR., Qureshi MA., Havenstein GB., CasasIA., 1997b. Characterization of two Escherichia coli isolates associated with poult enteritis and mortality syndrome. *Poult Sci* 76:1665—1673.

Elfadil AA., Vaillancourt JP., Meek AH., Julian RJ., Gyles CL., 1996: Description of cellulitis lesions and associations between cellulitis and other categories of condemnation. Avian Dis, **40**, 690- 698.

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

Escobar-Paramo P., Giudicelli C., Parsot C., Denamur E., 2003: The evolutionary history of Shigella and Enteroinvasive Escherichia coli revised J. Mol. Evol. **57,** 140-148.

Euzeby JP., 2005: Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. http://www.bacterio.cict.fr/bac-deco/index.html.

F

Fairbrother JM., Batisson I., Girard F., Mellata M., Pérès S., 2002: Original text on *E. coli*. Animal Health and Production Compendium, CD-ROM CAB International.

Fairbrother JM., Ngeleka M: Extraintestinal *Escherichia coli* Infections in Pigs. **In: Gyles CL., 1994:** Escherichia coli in domestic animals and humans. Oxon, Cab international: Wallingford, UK: CAB.

Farmer JJ., 3rd, Davis BR., Hichman-Brenner FW., McWhorter A., Huntley-Carter GP., Asbury MA., Riddle C., Wathen-Grady HG., Elias C., Fanning GR., 1985: Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens.*J Clin Microbiol*, **21,** 46-76.

Fecteau G., Smith BP., George LW., 2009: Septicemia and meningitis in the newborn calf .Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract. **25**,195 – 208.

Fenardji F., 1990 : Organisation, performances et avenir de la production avicole en Algérie. Institut de Développement des Petits Elevages, L'aviculture en Méditerranée. Options Méditerranéennes, Sér. A, n°7. 9 pages.

Ferrah A., 2000 : Filières et marchées des produits avicoles en Algérie, OFAL, ITDE.

Freney J., François R., Leclerq R., Riegek P: Précis de bactériologie clinique.2éme édition. Editions ESKA. p 1764.

G

Galimand M., Sabtcheva S., Courvalin P., Lambert T., 2005: Worldwide disseminated *armA* aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn1548. Antimicrob Agents Chemother. **49**, 2949 –2953.

Garnacho-Montero J., Ortiz-Leyba C., Jimenez-Jimenez FJ., Barrero-Almodovar AE, Garcia-Garmendia JL., Bernabeu-Winttell M., Gallego-Lara SL., Madrazo-Osuna J., 2003: Treatment of multdrug-resistant Acinetobacter baumanii ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin : a comparison with imipenem-susceptible VAP. Clin. Infect Dis. 36 (9), 1111-1118.

Gay CC., Besser TE: *Escherichia coli* septicemia in calves. **In: Gyles CL., 1994:** Escherichia coli in domestic animals and humans. Oxon, Cab international: Wallingford pp. 75–90.

Gazdzinski P., Barnes HJ., 2002. Venereal colibacillosis (acute vaginitis) in turkey breeder hens. Proc 51st Western Poult Dis Conf: Puerto Vallarta, MX, May 1—4, 176—177.

Gerardin J., Lalioui L., Jacquemin E., Le Bouguenec C., Mainil JG., 2000: The afa-related gene cluster in necrotoxigenic and other Escherichia coli from animals belongs to the afa-8 variant. Vet. Microbiol. **1945**, 1-10.

Ghebru H., 1988 : Contribution à l'étude du pouvoir pathogène des *Escherichia coli*. Mémoire de maîtrise es sciences vétérinaires en microbiologie immunologie, Nantes.

Ginns CA., Browning GF., Benham ML., Whithear KG., 1998: Development and application of anaerosol challenge method for reproduction of avian colibacillosis. *Avian Pathol* 27:505—511.

Gióon JA., Jones T., Millan-Velasco F., Castro-Munoz E., L. Zarate, Fry J., Frankel G., Moseley SL., Baudry B., Kaper JB., Shoolnik GK., RileyW., 1991: Diffuse –adhering Escherichia coli (DAEC) as a putative cause of diarrhea in Mayan children in Mexico. J Infect Dis,**163**: 507-513.

Glunder G., 1990: Dermatitis in broilers caused by Escherichia coli: isolation of Escherichia coli from field cases, reproduction of the disease with Escherichia coli O78:K80 and conclusions under consideration of predisposing factors. J. Vet. Med. [B]. **37**, 383-391.

Gniadkowski M., 2008: Evolution of extended-spectrum β-lactamases by mutation. Clin Microbiol Infect, 14:11-32.

Goffaux F., China B., Janssen L., Mainil J., 2000: Genotypic characterization of Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) isolated in Belgium from dogs and cats. Res. Microbiol. 151:865–71.

Gomis S., Amoako AK., Ngeleka AM., Belanger L., Althouse B., Kumor L., Waters E., Stephens S., Riddell C., Potter A., Allan B., 2002: Histopathologic and bacteriologic evaluations of cellulitis detected in legs and caudal abdominal regions of turkeys. *Avian Dis* 46:192—197.

Greatorex JS., Thorne GM., 1994: Humoral immune responses to Shiga-like toxins and *Escherichia coli* O157 lipopolysaccharide in hemolytic-uremic syndrome patients and healthy subjects. *J Clin Microbiol.* **32,** 1172-1178.

Grimont PAD., 1987: Taxonomie des Escherichia. Méd. Mal Infect (Numéro spécial). **17**, 6-10.

Gross WB., 1961: The development of "air sac disease." *Avian Dis* 5:431—439.

Gross WB., Siegel PB., 1959: Coliform peritonitis of chickens. *Avian Dis* 3:370—373.

Gross WG: Diseases due to Escherichia coli in poultry**. In: Gyles CL., 1994:** Escherichia coli in domestic animals and humans. Oxon. Cab international: Wallingford, p 237-259.

Guérin JL., Balloy D., Villate D., 2011 : Maladies des volailles. 3ème édition. Editions France Agricole.576 pages.

Guo, W., Ling C., Cheng F., Guo WZ., Ling CS., F.H., Cheng., 1998: Preliminary investigation on enterohaemorrhagic Escherichia coli O157 from domestic animals and fowl in Fujian province. Chinese J Zoonoses. 14,3-6.

Guy JS., Smith LG., Breslin JJ., Vaillancourt JP., Barnes HJ., 2000: High mortality and growth depression experimentally produced in young turkeys by dual infection with enteropathogenic Escherichia coli and turkey coronavirus. *Avian Dis* 44:105—113.

Gyles CL., 1994: Escherichia coli in domestic animals and humans**.** Cab international 649 pages.

Gyles CL., 2007: Shiga toxin-producing *Escherichia coli* : an overview . J. Anim. Sci. 85 (Supplement 13). E45 – E62.

Gyles CL., Fairbrother JM., 2004: Escherichia coli. In B.W. Calnek (Ed.), Pathogenesis of bacterial infections in animals / Edited by Carlton L. Gyles, John F. Prescott,J. Glenn Songer, and Charles O. Thoen 3 rd ed. 2004 (CH:16 pp. 193 - 223). Ames, IA: Iowa State PressA Blackwell Publishing Company

Gyles CL., Fairbrother JM., 2010: Escherichia coli. In B.W. Calnek (Ed.), Pathogenesis of bacterial infections in animals / Edited by Carlton L. Gyles, John F. Prescott, J. Glenn Songer, and Charles O. Thoen 4 th ed. 2010 (CH:15 pp. 267 -308). Ames, IA: Iowa State PressA Blackwell Publishing.
H11 clonal complex.J Clin Microbiol, **8**: 2989-2993.

H

Hammermueller J., Kruth S., Prescott J., Gyles C., 1995: Detection of toxin genes in *Escherichia coli* 217 *Escherichia coli* isolated from normal dogs and dogs with diarrhea. Can. J. Vet. Res. 59:265–270.

Hammoudi A., Aggad H., 2008: Antibioresistance of Escherichia coli Strains Isolated from Chicken Colibacillosis in Western Algeria Turk. J. Vet. Anim. Sci. 32(2), 123-126.

Helali A., 2002 : Pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en Médecine, Edition ENAG, Alger, pages 135-171.

Heller ED., Leitner G., Drabkin N., Melamed D., 1990: Passive immunisation of chicks against Escherichia coli. *Avian Pathol* 19:345—354.

Hennequin C., Robin F., Cabrolier N., Bonnet R., Forestier C., 2012: Characterization of a DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* strain involved in an outbreak and role of the AmpR regulator in virulence. *Antimicrob. Agents Chemother*. 56(1): 288-294.

Herren CD., Mitra A., Palaniyandi SK., Coleman A., Elankumaran S., Mukhopadhyay S., 2006: The BarA-UvrY twocomponent system regulates virulence in avian pathogenic Escherichia coli O78:K80:H9. Infection and Immunity. **74**, 4900-4909.

Hertzke DM., Cowan LA., Schoning P., Fenwick BW., 1995: Glomerular ultrastructural lesions of idiopathic cutaneous and renal glomerular vasculopathy of greyhounds. Vet. Pathol. 32,451–459.

Heuvelink AE., Zwartkruis-Nahuis JT., Van Den Biggelaar FL., Van Leeuwen WJ., E. De Boer E., 1999: Isolation and characterization of verocytotoxin-producing Escherichia coli O157 from slaughter pigs and poultry. Int J Food Microbiol. 52, 67-75.

Higgins PG., Fluit AC., Schmitz FJ., 2003: Fluoroquinolones: structure and target sites. Curr. Drug Targets 4 (2), 181-190.

Holloway S., Senior D., Roith L., Tisher CC., 1993: Hemolytic uremic syndrome in dogs. J. Vet. Int. Med. **7**,220–227.

Huang DB., Okhuysen PC., Jiang ZD., Du Pont LH., 2004: Enteroaggregative Escherichia coli: an emerging enteric pathogen. Am. J. Gastroenterol. **99**, 383-389.

Huff GR., Huff WE., Balog JM., Rath NC., 1999: Sex differences in the resistance of turkeys to Escherichia coli challenge after immunosuppression with dexamethasone. Poult Sci.**78**, 38-44.

Huff GR., Huff WE., Rath NC., Balog JM., 2000: Turkey osteomyelitis complex. Poult Sci. 79, 1050-1056.

Huys G., Cnockaert M., Janda JM., Swings J., 2003: Escherichia albertii sp. Nov., a diarroeagenic species isolated from stool specimens of Bangladeshi children. *Int. J Syst Evol Microbiol*. **53**, 807-810.

I

ITELV., 2015 : Brochure des observations des filières avicoles algériennes : produits et intrants avicoles.

J

Jacoby GA., Munoz-Price LS., 2005: The new β-lactamases. N Engl J Med, 352:380-91.

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

Johnson TJ., Siek KE., Johnson SJ., Nolan LK., 2006: DNA sequence of a ColV plasmid and prevalence of selected plasmidencoded virulence genes among avian Escherichia coli strains. Journal of Bacteriology. 188, 745-758.

Joly B., Reynaud., 2003: Entérobactéries, systématiques et méthode de diagnostic. Monographie de microbiologie. 2éme édition. TEC & DOC. 356 pages.

Jordan FTW. Pattison M., 1996: Poultry diseases. W. B. Saunders Company: London, 38-43.

Joya J E., Tsuji T., Jacalne AV., Arita M., Tsukamoto T., Honda T., Miwatani T., 1990: Demonstration of enterotoxigenic Escherichia coli in diarrheic broiler chicks. *Eur J Epidemiol* 6:88—90.

K

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

Katwa LC., White AA., 1992: Presence of fonctional receptors for the Escherichia coli heat-stable enterotoxin in the gastrointestinal tract of the chicken. Infect. Immun. **60**, 3546-3551.

Kean BH., 1986: Traveler's diarrhea: an overview. Rev. Infect. Dis. 8 Suppl **2**: S111-116.

Kim TE., Jeong YW., Cho SH., Kim SJ., Kwon HJ., 2007: Chronological study of antibiotic resistances and their relevant genes in Korean avian pathogenic *Escherichia coli* isolates.J. Clin. Microbiol. 45, 3309-3315.

L

La Ragione RM., Woodward MJM., 2002: Virulence factors of Escherichia coli serotypes associated with avian colisepticemia. Res in Vet Sci. **73**, 27-35.

Lachance J., Nadeau E., 2004 : Représentation schématique des étapes impliquées dans la pathogénie d'infection due à différent pathovars des E. coli chez les animaux. The *Escherichia coli* Laboratory, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal. **In: Gyles CL., Prescott JF., Songer JG., Thoen GO:** Pathogenesis of bacterial infections in animals. 3rd . Blackwell editions. USA. 465 pages.

Lafont JP., Bree A., Plat M., 1984: Bacterial conjugation in the digestive tracts of gnotoxenic chickens. *Appl Environ Microbiol* 47:639—642.

Lalioui L., Jouve M., Gounon P., Le Bouguenec C., 1999: Molecular cloning and characterization of the afa-7 and afa-8 gene clusters encoding afimbrial adhesions in Escherichia coli strains associated with diarrhea or septicemia in calves. Infect. Imm. **67**, 5048-5059.

Lalzampuia H., Dutta TK., Warjri I., Chandra R., 2014: Detection of extended-spectrum β-lactamases (*blaCTX-M-1* and *blaTEM*) in *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., and *Klebsiella pneumoniae* isolated from poultry in North Eastern India. Veterinary World, 7(11): 1026-1031.

Lamarche MG., Dozois CM., Daigle F., Caza M., Curtiss R., 3rd, Dubreuil JD., Harel J., 2005: Inactivation of the pst system reduces the virulence of an avian pathogenic Escherichia coli O78 strain. Infection and Immunity. **73**, 4138-4145.

Lavigne JP., 2007 : Effets des antibiotiques et Mécanismes de résistances, Facultés de Médecine Montpellier, p: 1-3.

Le Bouguenec C., Bertin Y., 1999: Afa and F17 adhesins produced by pathogenic Escherichia coli strains in domestic animals. Vet. Res. **30**, 317-342.

Leibovitz L., 1972: A survey of the so-called "anatipestifer syndrome." *Avian Dis* 16:836—851.
Levine MM., 1984: Escherichia coli infections. In: **Germanier R.,** Bacterial vaccines, academic Press, New York, 187-235.

Levine MM., 1987: Escherichia coli that cause diarrhea. Enterotoxigenic, Enteropathogenic, Enteroinvasive, Enterohemorragic, and enteroadherent. *J Inf Dis*. 155, 377-380.

Levine MM., Ferreccio C., Prado V., Cayazzo M., Abrego P., Martinez J., Maggi L., Baldini MM. Martin W., Maneval D.,Kay B., Guers L.,Lior H., Wasserman SS., Nataro PJ., 1993: epidemiologic studies of Escherichia coli diarrheal infections in a low socioeconomic level peri-urban community in Santiago, Chile .Am. J. Epidemiol. **138**, 849-869.

Livermore DM., 2008: Defining an extended-spectrum β-lactamase. Clin Microbiol Infect, 14:3-10.

Livermore DM., Canton R., Gniadkowski M., Nordmann P., Rossolini GM., Arlet G., Ayala J., Coque TM., Kern-Zdanowicz I., Luzzaro F., Poirel L., Woodford N., 2007: CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. J Antimicrob Chemother, 59:165-74.

Livrelli V., Bonnet R., Joly B., Darfeuille-Michaud., 2007: *Escherichia coli* et autres Escherichia, Shigella. CH 54, p: 989-1004.**In Freney J., François R., Leclerq R., Riegek P**: Précis de bactériologie clinique.2éme édition. Editions ESKA. Pages : 1764.

M

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

MacLeod DL., Gyles CL., Wilcock BP., 1991: Reproduction of edema disease of swine with purified Shiga-like toxin-II variant. Vet. Pathol. 28, 66–73.

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

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

MAJO N., DOLZ R., 2012: Autopsie des volailles. Collection Atlas. Les éditions du point vétérinaire. 82 pages.

Malhotra R., 2013: Extended spectrum beta lactamases important resistance threat. International journal of scientific Research, vol 2, 11: 448-450.

Malik A., Tóth I., Beutin L., Schmidt H., Taminiau B., Dow MA., 2006: Serotypes and intimin types of intestinal and faecal strains of eae+ *Escherichia coli* from weaned pigs . Vet. Microbiol. 114, 82 – 93.

McPeake SJ., Smyth JA., Ball HJ., 2005: Characterization of avian pathogenic Escherichia coli (APEC) associated with colisepticaemia compared to faecal isolates from healthy birds. Veterinary Microbiology. 110, 245-253.

Mellata M., Dho-Moulin M., Dozois CM., Curtiss III R., Brown PK., Arne P., Bree A., Desautels C., Fairbrother JM., 2003a : Role of virulence factors in resistance of avian pathogenic Escherichia coli to serum and in pathogenicity. *Infection and Immunity*. 71, 536-540.

Mellata M., Dho-Moulin M., Dozois CM., Curtiss III R., Lehoux B., Fairbrother JM., 2003b: Role of avian pathogenic Escherichia coli virulence factors in bacterial interaction with chicken heterophils and macrophages. *Infection and Immunity*. **71**, 494-503.

Mellata M., Touchman JW., Curtiss R., 2009 : Full sequence and comparative analysis of the plasmid pAPEC - 1 of avian pathogenic E. coli chi7122 (O78:K80:H9). PLoS ONE. 4: e4232.

Menard R., Dehio C., Sansonetti PJ., 1996: Bacterial entry into epithelial cells: the paradigm of Shigella. Trends Microbiol. **4**: 220-226.

Messaï CR., Khelef DJ., Boukhors KT., Radji N., Goucem R., Hamdi T-M., 2013: Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* strains isolated from broiler chickens affected by colibacillosis in Setif. Afr. J. Microbiol. Res. Vol. 7(21), pp. 2668-2672.

Milon A., Oswald E., De Rycke J., 1999: Rabbit EPEC: a model for the study of Enteropathogenic *Escherichia coli*. Vet. Res. 30, 203–219.

Moellering RCJr., 1995: Pharmacokinetics of vancomycin. J. Antimicrob. Chemother. 14 (Suppl.D): 43-52

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

Montgomery RD., Boyle CR., Lenarduzzi TA., Jones LS., 1999 : Consequences to chicks hatched from Escherichia coli-inoculated embryos. *Avian Dis* 43:553—563.

Moon BM., Won GY., Choi YY., Jin JK., Oh IG., Park JH., Eo SK., Lee JH., 2006: Isolation and characteristics of avian pathogenic Escherichia coli from birds associated with colibacillosis Chulalongkorn Uni. Fac. of Vet. Sc., Bangkok, Thailand, Proceedings of AZWMP.

Morishita TY., Bickford AA., 1992: Pyogranulomatous typhlitis and hepatitis of market turkeys. *Avian Dis* 36:1070—1075.

Morley AJ., Thomson DK., 1984: Swollen-head syndrome in broiler chickens. *Avian Dis* 28:238—243.

Moulin M., Coquerel A., 2002 : Pharmacologie Connaissance et Pratiques. 2éme édition. Edition Masson. Paris, pages 845.

Mutalib A., Miguel B., Brown T., Maslin W., 1996: Distribution of arthritis and osteomyelitis in turkeys with green liver discoloration. *Avian Dis* 40:661—664.

N

Naas T., Poirel L., Nordmann P., 2008: Minor extended-spectrum β-lactamases. Clin Microbiol Infect, 14:42-52.

Nagy B., Fekete PZ., 1999: Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals. *Vet Res,* **30**, 259–284.

Nagy B., Fekete PZ., 2005: Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine . *Int. J. Me*d. Microbiol. **295**, 443 – 454.

Nakamura K., Abe F., 1987. Ocular lesions in chickens inoculated with Escherichia coli. *Can J Vet Res* 51:528—530.

Nakamura K., Cook JK., Frazier JA., Narita M., 1992: Escherichia coli multiplication and lesions in the respiratory tract of chickens inoculated with infectious bronchitis virus and/or Escherichia coli. Avian Dis, **36**, 881-890.

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

Nauciel C., Vildé JL., 2008 : Bactériologie médicale. 2éme éditions. Editions Masson. Page 257.

Naylor SW., Gally DL., Low JC., 2005: Enterohaemorrhagic *E. coli* in veterinary medicine .Int. J. Med. Microbiol. 295, 419 – 441.

Neal M., 2007 : Pharmacologie médicale. 3éme éditions. De Boeck. Paris, pages 80-85

Newberry LA., Skeeles JK., Kreider DL., Beasley JN., Story JD., McNew RW., Berridge BR., 1993: Use of virulent hemorrhagic enteritis virus for the induction of colibacillosis in turkeys. *Avian Dis* 37:1—5.

Nolan LK., Horne SM., Giddings CW., Foley SL., Johnson TJ., Lynne AM., Skyberg J., 2003: Resistance to serum complement, iss and virulence of avian Escherichia coli. *Vet Res,* Communications. **27**, 101-110.

Nolan LK., Wooley RE., Brown J., Spears KR., Dickerson HW., Dekich M., 1992a: Comparison of a complement resistance test, a chicken embryo lethality test, and the chicken lethality test for determining virulence of avian Escherichia coli. Avian Diseases, **36**, 395-397.

Nolan LK., Wooley RE., Cooper RK., 1992b: Transposon mutagenesis used to study the role of complement resistance in the virulence of an avian Escherichia coli isolate. Avian Diseases, **36**, 398-402.

O

Olkowski A A., Kumor L., Johnson D., Bielby M., Chirino Trejo M., Classen HL., 1999: Cellulitis lesions in commercial turkeys identified during processing. *Vet Rec* 145:228—229.

Olsen RH., Bisgaard M., Löhren U., Robineau B., Christensen H., 2014: Extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli isolated from poultry: a review of current problems, illustrated with some laboratory findings. Avian Pathology, Vol. 43, 3: 199–208.

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

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

P

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

Pages J., 2004 : Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. Médecine/Sciences, 346-51

Palmer CC., Baker HR., 1923: Studies on infectious enteritis of poultry caused by Bacterium coli communis. J Am Vet Med Assoc. **63**, 85-96.

Paquet- Bouchard C., 2006: Caractérisation moléculaire de la protéine antibiotique P1 du phage AP205, maitrise en microbiologie-immunologie, Université Laval.

Parreira VR., Arns CW., Yano T., 1998: Virulence factors of avian Escherichia coli associated with swollen head syndrome. Avian Pathol. **27**, 148-154.

Parreira VR., Gyles CL., 2002: Shiga toxin genes in avian Escherichia coli.*Vet Microbiol*, **87**, 341-352.

Parreira VR., Gyles CL., 2003: A novel pathogenicity island integrated adjacent to the thrW tRNA gene of avian pathogenic Escherichia coli encodes a vacuolating autotransporter toxin. Infection and Immunity. **71**, 5087-5096.

Parreira VR., Yano T., 1998: Cytotoxin produced by Escherichia coli isolated from chickens with swollen head syndrome (SHS). *Vet Microbiol*, **62**, 111-119.

Paterson DL., Bonomo RA., 2005: Extended-spectrum β-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev,18:657-86.

Pattison M., Chettle N., Randall CJ., Wyeth PJ.,1989: Observations on swollen head syndrome in broiler and broiler breeder chickens. *Vet. Rec.*, **125**, 229- 231.

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

Pfaff-McDonough SJ., Horne SM., Giddings CW., Ebert JO., Doetkott C., Smith MH., Nolan LK., 2000: Complement resistance-related traits among Escherichia coli isolates from apparently healthy birds and birds with colibacillosis. *Avian Dis*, **44**:23-33.

Pierson FW., Larsen CT., Domermuth CH., 1996: The production of colibacillosis in turkeys following sequential exposure to Newcastle disease virus or Bordetella avium, avirulent hemorrhagic enteritis virus, and Escherichia coli. *Avian Dis* 40:837—840.

Pilipcinec E., Tkacikova L., Naas HT., Cabadaj R., Mikula I., 1999: Isolation of verotoxigenic Escherichia coli O157 from poultry. *Folia Microbiol*, **44**, 455-456.

Pohl P., Mainil JG., 1995: F17 positive Escherichia coli. *Vet Res*, **137**, 623-624.

Pourbakhsh SA., Boulianne M., Martineau-Doize B., Fairbrother JM., 1997a: Virulence mechanisms of avian fimbriated Escherichia coli in experimentally inoculated chickens. *Vet Microbiol*, **58**, 195-213.

Pourbakhsh SA., Boulianne M., Martineau-Doize B., Dozois CM., Desautels C., Fairbrother JM., 1997b : Dynamics of Escherichia coli infection in experimentally inoculated chickens. Avian Dis **41**, 221-233.

Pourbakhsh SA., Dho Moulin M., Bree A., Desautels C., Martineau Doize B., Fairbrother JM., 1997c: Localization of the in vivo expression of P and F1 fimbriae in chickens experimentally inoculated with pathogenic Escherichia coli. *Microbial Pathog*, **22**, 331-341.

Poyart C., 2003 : Résistances des bactéries aux Antibiotiques, In : Bactériologie générale. P.C.E.M.2. Faculté de médecine Necker-Enfants malades, p : 1-89

Pradel N., Livrelli V., De Champs C., Palcoux JB., Reynaud A., Scheutz F., Sirot J., Joly B., Forestier C., 2000: Prevalence and characterization of Shiga toxin-producin Escherichia coli isolated from cattle, food, and children during a one-year prospective study in France. *J Clin Microbiol*, **38**: 1023-1031.

Provence DL., Curtiss III R., 1994: Isolation and characterization of a gene involved in hemaggltination by an avian pathogenic Escherichia coli strain. *Infect Immun*, 1369-1380.

Q

Quintiliani R Jr., Courvalin P., 1995: Mechanisms of resistance to antimicrobial agent. In " Manual of clinical microbiology" Edited by Murry et al., 6th Edition, American Society of Microbiology, Press, pp. 1308-1326.

Qureshi MA., Saif YM., Heggen-Peay CL, Edens FW., Havenstein GB., 2001: Induction of functional defects in macrophages by a poult enteritis and mortality syndrome- associated turkey astrovirus. *Avian Dis* 45:853—861.

R

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

Randall LP., Clouting C., Horton RA., Coldham NG., Wu G., Clifton-Hadley FA., Davies R H., Teale CJ., 2010: Prevalence of *Escherichia coli* carrying extended- spectrum beta-lactamases (CTX-M and TEM-52) from broiler chickens and turkeys in Great Britain between 2006 and 2009. *J. Antimicrob. Chemother.,* 66(1): 86-95.

Rangel JM., Sparling PH., Crowe C., Griffin PM., Swerdlow DL., 2005: Epidemiology of Escherichia coli O157: H7 outbreaks, United States, 1982-2002. Emerg. *Infect Dis*, **11**, 603-609.

Rasmussen BA., Bradford PA., Quinn JP., Wiener., Weinstein RA., Bush K., 1993: Genetically diverse ceftazidime-resistant isolates from a single center: biochemical and genetic characterization of TEM-10 betalactamases encoded by different nucleotide sequences. Antimicrob. Agents Chemother. **37:**1989–1992.

Reich F., Atanassova V., Klein G., 2013: Extended-spectrum β-lactamase- and AmpC-producing enterobacteria in healthy broiler chickens, Germany. Emerging Infectious Diseases 19, 1253–1259.

Richard C., 1989: Bactériologie et épidémiologie des souches typiques, atypiques et potentiellement pathogènes d'Escherichia coli. Information du Technicien biologiste **2**: 45-52.

Robineau B., Moalic PY., 2010: Une maladie d'actualité en production aviaire: La colibacillose. *Bull Acad Vét France*, tome **163** - n°3.

Rodriguez-Siek KE., Giddings CW., Doetkott C., Johnson, TJ., Nolan, LK., 2005: Characterizing the APEC pathotype. Vet. Res. **36**, 241-256.

Rossolini GM., D'Andrea MM., Mugnaioli C., 2008: The spread of CTX-M-type extended-spectrum β-lactamases. Clin Microbiol Infect,14(Suppl. 1):33-41.

S

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

Salvadori MR., Yano T., Carvalho HF., Parreirav R., Gyles CL., 2001: Vacuolating cytotoxin produced by avian pathogenic Escherichia coli. *Avian Dis*, **45**, 43-51.

Sanders P., 2005: L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. Bull. Acad. Vét. France. Tome 158 - N°2, 137 -143.

Schawarz S., Chaslus-Dancla E., 2001: Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Vet Res*, **32** (3-4), 201-225.

Schouler C., Schaeffer B., Brée A., Mora A., Dahbi G., Biet F., Oswald E., Mainil J., Blanco J., Moulin-Schouleur M., 2012: Diagnostic Strategy for Identifying Avian Pathogenic *Escherichia coli* Based on Four Patterns of Virulence Genes. Journal of Clinical Microbiology, 1673–1678.

Schwan WR., Lee JL., Lenard FA., Matthews BT., Beck MT., 2002: Osmolarity and pH growth conditions regulate fim gene transcription and type 1 pilus expression in Uropathogenic Escherichia coli. *Infect Immun*, **70**, 1391-1402.

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

Skyberg JA., Johnson TJ., Johnson JR., Clabots C., Logue CM., Nolan, LK., 2006: Acquisition of avian pathogenic Escherichia coli plasmids by a commensal E. coli isolate enhances its abilities to kill

chicken embryos, grow in human urine, and colonize the murine kidney. *Infection and Immunity*, **74**, 6287-6292.

Sojka WJ., Carnaghan RB A., 1961: Escherichia coli infection in poultry. Res. Vet. Sci. **2**, 340-353.

Soumaila Garba A., 2012 : Caractérisation phénotypique et génétique des *Escherichia coli* isoles des cas de colibacilloses aviaires au Sénégal. Thèse pour diplôme d'état de Docteur en Medecine vétérinaire. Université cheikh anta diop de dakarecole inter-etats des sciences et medecine vétérinaires de Dakar (E.I.S.M.V). 79 pages**.**

Standardisation de l'Antibiogramme en Médicine Humaine et Vétérinaire à l'Echelle Nationale, selon les recommandations de L'OMS, 7éme édition, 2014. http://www.sante.dz/aarn/publications.htm

Stordeur P., Beaupain N., Mainil J., 2003 : Caractérisation génotypique de souches invasives aviaires d'Escherichia coli isolées en Belgique. *Ann Méd Vét*, **147**, 275-280.

Stordeur P., Mainil J., 2002 : La colibacillose aviaire. *Ann Méd Vét*, **146**, 11-18.

Stordeur P., Marlier D., Blanco J., Oswald E., Biet F., Dho-Moulin M, Mainil J., 2002: Examination of Escherichia coli from poultry for selected adhesin genes important disease caused by mammalian pathogenic E. coli. *Vet Microbiol*, **84**, 231- 241.

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

Sukupolvi S., O'Connor D., Ma¨kela¨ PH., 1987 : The effects of traT insertion mutations on detergent sensitivity and serum resistance of Escherichia coli and Salmonella typhimurium. *FEMS Microbiology Letters*, **43**, 81-87.

T

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

Tap J., 2004 : Caractérisation moléculaire des *Escherichia coli* O111et diversité des souches isolées en France. Rapport de stage. Unité Biodiversité Bactéries Pathogènes Emergentes. Centre national de référence des *Escherichia coli* et *Shigell.1-39 pages.*

Tate, C. R., W. C. Mitchell, and R. G. Miller. 1993. Staphylococcus hyicus associated with turkey stifle joint osteomyelitis. *Avian Dis* 37:905—907.

Tenson T,. Lovmar M., Ehrenberg M., 2003: The mechanism of action of macrolides, lincosamides and streptogramin B reveals the nascent peptide exit path in the ribosome. *J Mol Biol*, **330** (5), 1005-1014.

Teshager T., Dominguez L., Moreno MA., Saenz Y., Torres C., Cardenosa S., 2000: Isolation of an SHV-12 beta-lactamase-producing Escherichia coli strain from a dog with recurrent urinary tract infections. Antimicrob Agents Chemother,44: 3483–3484.

Tortura GJ., Funke BR., Case CL., 2003: Introduction à la Microbiologie. Adaptation française par Louis Martin, 7éme édition. Canada : Bibliothèque nationale du Canada, p : 945.

Toth TE., Siegel PB., 1986 : Cellular defense of the avian respiratory tract: paucity of free - residing macrophages in the normal chicken . *Avian Dis*, 30 : 67 – 75 .

V

Vaillancourt JP., 2009 : Une approche régionale à la biosécurité: l'exemple avicole. *Bull Acad Vét France*, Tome 162 - N°3, p: 257-264

Van Den Bogaard AE., London N., Driessen C., Stobberingh EE., 2001: Antibiotic resistance of faecal Escherichia coli in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *J Antimicrob Chemothe,*. 47, 763-771.

Van den Hurk JV., Allan BJ., Riddell C., Watts T., Potter AA., Van den Hurk JV., 1994: Effect of infection with hemorrhagic enteritis virus on susceptibility of turkeys to *Escherichia coli. Avian Dis* 38:708—716.

Vidotto MC., Cacao JM., Goes CR., Santos DS., 1991: Plasmid coding for aerobactin production and drug resistance is involved in virulence of Escherichia coli avian strains. Braz. *J Med Biol Res*, **24**, 677-685.

Vidotto MC., Müller EE., De Freitas JC., Alfieri AA., Guimaraes IG., Santos DS., 1990: Virulence factors of avian Escherichia coli. *Avian Dis*, **34**, 531-538.

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

Villate D., 2001: Maladies des volailles. Manuel pratique. 2éme édition. Editions France Agricole. 399 pages.

W

Wang Y., Tang C., Yu X., Xia M., Yue H., 2010: Distribution of serotypes and virulence-associated genes in pathogenic *Escherichia coli* isolated from ducks". Avian Pathol. Aug; 39(4):297-302.

Wasyl D., Hoszowski A., Zajac M., Szulowski K., 2013: Antimicrobial resistance in commensal Escherichia coli isolated from animals at slaughter. Frontiers in Microbiology, 4, 221: 1-12.

Weldhagen GF., Poirel L., Nordmann P., 2003: Ambler class A extended-spectrum β-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. Antimicrob Agents Chemother, 47:2385-92.

White DG., Wilson RA., San Gabriel A., Saco M., Whittam., 1990: Genetic relationships among strains of avian *E. coli* associated with swollen head syndrome. *Infect. Immun.*, **58**, 3613-3620.

Williams PH., 1979: Novel iron uptake system specified by ColV plasmids : an important component in the virulence of invasive strains of Escherichia coli. Infect. Immun. **26**, 925-932.

Willis C., 2000: Antibiotics in the food chain: Their impact on the consumer. *Rev. Med. Microbiol.*, 11: 153-160.

Wooley RE., Gibbs PS., Brown TP., Maurer JJ., 2000: Chicken embryo lethality assay for determining the virulence of avian Escherichia coli isolates. *Avian Dis*, **44**, 318- 324.

Wooley RE., Nolan LK., Brown J., Gibbs PS., Giddings CW., Turner KS., 1993: Association of K-1 capsule, smooth lipopolysaccharides, traT gene, and Colicin V production with complement resistance and virulence of avian Escherichia coli. Avian Diseases. **37**, 1092-1096.

Y

Yalla D., Merad AS., Mohamdi D., Ouarkorich MN., 2001 : Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb. **91**, 1-11.

Yang H., Chen S., White DG., Zhao S., McDermott P., Walker R., Meng J., 2004: Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolates from diseased chickens and swine in China. *J Clin Microbiol*. 42, 3483–3489.

Yeni P., 2003 : Pathologie Infectieuse. Médecine Science, 3éme édition, Flammarion. Paris, p : 237-246.

Yogaratnam V., 1995: Analysis of the causes of high rates of carcase rejection at a poultry processing plant. *Vet Rec*, **137**, 215-217.

Z

Zahraei Salehi T., Farashi Bonab S., 2006: Antibiotics susceptibility pattern of *Escherichia coli* strains isolated from chickens with colisepticemia in Tabriz Province, Iran. International Journal of Poultry Science 5 (7): 677-684.

Zanella A., Alborali GL., Bardotti M., Candotti P., Guadagnini PF., Martino A, P., Stonfer M., 2000: Severe *Escherichia coli septicemia* O111 septicaemia and polyserositis in hens at the start of lay. Avian *Pathology*,
29, 311-317.

Zhang W., Bielaszewska M., Bockemühl J., Schmidt H., Scheutz F., KarchH ., 2000: Molecular analysis of H antigens reveals thathumain diarrheagenic *Escherichia coli* O26 strains that carry the "*eae*" gene belong to the H11 clonal complex. *J Clini Microbiol*, **8**: 2989-2993.

Zhao S., Maurer JJ., Hubert S., De Villena JF., McDermott PF., Meng J., Ayers S., English L, White DG., 2005: Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic Escherichia coli isolates. *Vet Microbiol.* 107,215–224.

Zhu C., Harel J., Jacques M., Desautels C., Donnenberg MS., Beaudry M., Fairbrother JM., 1994: Virulence properties and attaching-effacing activity of *Escherichia coli* O45 from swine postweaning diarrhea. *Infect Immun*, **62**, 4153–4159.

Zhu C., Harel J., Jacques M., Fairbrother JM., 1995: Interaction with pig ileal explants of *Escherichia coli* O45 isolates from swine with postweaning diarrhea. *Can J Vet Res*, **59**,118–123.

ANNEXE I

Tableau I: Caractères biochimiques, différentiels des principales espèces du genre Escherichia (Bettelheim, 2002 ; Huys *et al*., 2003 ; Abbott *et al.*, 2003 ; Euzéby, 2005).

	E. coli	***E. hermannii***	***E. vulneris***	***E. fergusonii***	***E. albertii***	***E. blattae***
Pigment jaune	-	+	d	-	-	-
Mobilité (36°C)	+	+	+	+	-	-
ONPG	+	+	+	d+	+	-
Indole	+	+	-	+	-	-
LDC	+	-	+	+	+	+
ODC	d+	+	-	+	+	+
ADH	d	-	d	-	-	-
Citrate de Simmons	-	-	-	-	-	d
Croissance en KCN	-	+	-	-	-	-
Hydrolyse de l'esculine	d	d	d	d	d**	-
Utilisation du :						
malonate	-	-	+	d	-	d*
acétate	+	d+	d	+	+	-
Fermentation du :						
adonitol	-	-	-	+	-	-
D-arabitol	-	-	-	+	-	-
cellobiose	-	+	+	+	-	-
dulcitol	d+	d	-	d+	-	-
glycerol	d+	-	d	d	+**	+
lactose	+	d-	-	-	-	-
maltose	+	+	+	+	d	+
D-mannitol	+	+	+	+	+	-
mélibiose	d+	-	+	-	-	-
raffinose	d	d	+	-	-	-
L-rhamnose	d+	+	+	+	-	+
saccharose	d	d	-	-	-	-
salicine	d	d	d	d+	-	-
D-sorbitol	+	-	-	-	-	-
tréhalose	+	+	+	+	d	d+
D-xylose	+	+	+	+	-	+

+: au moins 85 % des souches donnent un résultat positif.
- : au moins 85 % des souches donnent un résultat négatif
d : résultat positif pour 16 à 50 % des souches.
d+ : résultat positif pour 51 à 84 % des souches.
d- : résultât négatif pour 51 à 84 % des souches.

ANEXE II

Figure I: Milieu Mac conkey et gélose nutritif (Photo personnelle)

Figure II: Huile de vaseline et flacon d'eau distillé stériles (Photo personnelle)

Figure III: Réactifs additionnées pour la lecture de la galerie API 20 E après incubation (Photo personnelle)

ANNEXE III

Tableau II : Tableau de lecture API 20 E

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0.223	B-galactosidase (Ortho NitroPhenil-βD-Galactopyranosidase)	Incolore	Jaune (1)
ADH	L-arginine	1.9	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé (2)
LDC	L-lysine	1.9	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
ODC	L-ornithine	1.9	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
CIT	Trisodium citrate	0.756	Utilisation du citrate	Jaune	Bleu-vert/Bleu (3)
H_2S	Sodium thiosulfate	0.075	Production d'H2S	Vert pâle/jaune	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	0.76	Uréase	Incolore/grisâtre	Rouge/orangé (2)
TDA	Tryptophane	0.38	Tryptophane désaminase	TDA/ immédiat	
				jaune	Marron-rougeâtre
IND	Tryptophane	0.19	Production d'indole	James/ immédiat	
				Incolore vert pâle/ jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	1.9	Production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP1+VP2/ 10 min	
				Incolore/rose pâle	Rose / rouge (5)
GEL	Gélatine (origine bovine)	0.6	Gélatinase (gélatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1.9	Fermentation/oxydation (Glucose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D- mannitol	1.9	Fermentation/oxydation (Mannitol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	1.9	Fermentation/oxydation (Inositol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	1.9	Fermentation/oxydation (Sorbitol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	1.9	Fermentation/oxydation (Rhamnose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	1.9	Fermentation/oxydation (Saccharose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	1.9	Fermentation/oxydation (Melibiose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	0.57	Fermentation/oxydation (Amygdaline) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	1.9	Fermentation/oxydation (Arabinose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre		Cytochrome-oxydase	Ox/ 5-10 mn	
				Incolore	Anneau violet

(1) Une très légère couleur jaune est également positive.
(2) Une couleur orange apparaissant après 36-48h d'incubation doit être considérée négative.
(3) Lecture dans la cupule (zone aérobie).
(4) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.
(5) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.

ANNEXE IV

Tableau III : Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative en médecine vétérinaire pour *Enterobacteriaceae*

Antibiotiques testés	Charges des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline - Toutes espèces animales	10µg	≤13	14-16	≥17	≥32	16	≤8	La réponse pour l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
- Chien : *Escherichia coli*	-	-	-	-	≥1	0,5	≤0,25	La valeur ≤8 doit être utilisée pour les infections du tractus urinaire, cette valeur correspond à une administration orale de 25.6mg/kg Pour l'amoxicilline , elle est de 11 mg / kg administrées cinq doses consécutives à 8 heures d'intervalle . La concentration des urines produites chez le chien est > 300µ/ml
Amoxicilline+ Acide clavulanique*	20/10 µg	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≤8/4	Le disque d'AMC doit être appliqué près du disque de CTX ou TIO, une image de synergie indique la présence d'une BLSE, Apres confirmation, la souche BLSE+doit être rendue résistantes à toutes les ß-lactamases (sans tenir compte des valeurs critiques)
Céfalotine	30 µg	14	15-17	≥18	≥32	16	≤8	La réponse à la céfalotine est valable pour toutes les céphalosporines de première génération.
Céftiofur	30 µg	≤17	18-20	≥21	≥8	4	≤2	
Néomycine	30 µg	≤13	14-17	≥18	≥64	32	≤16	La réponse pour la néomycine est valable pour la kanamycine
Gentamicine**	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4	
- Espèce canine		≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2	Ces valeurs sont inspirées de la pharmacocinétique (utilisant des doses cliniques acceptables) et des données pharmacodynamiques, pour les chiens, la dose de la gentamicine modifiée est : 10mg /kg /24h en IM.
- Espèce équine		≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2	Ces valeurs sont inspirées de la pharmacocinétique (utilisant des doses cliniques acceptables) et des données pharmacodynamiques, pour les chevaux, la dose de la gentamicine modifiée est : 6.6mg /kg /24h en IM.
Sulfisoxazole	300 µg	≤12	13-16	≥17	≥512	-	≤256	La réponse pour le sulfisoxazole est valable pour les sulfonamides
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤10	11-15	≥16	≥4/76	-	≤2/38	La valeur ≤2/38 peut être utilisée pour les isolats des infections du tractus urinaire.
Tétracyclines	30 µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤ 4	Le test de sensibilité à la tétracycline est valable pour tester la sensibilité aux chlortétracyclines, doxycyclines et oxytétracyclines. Les organismes sensibles à la tétracycline sont aussi considérés comme sensibles à la doxycycline mais certains organismes classés comme intermédiaires ou résistants à la tétracycline peuvent être sensibles à la doxycycline ou à la minocycline ou aux deux.
Acide nalidixique/ fluméquine	30 µg	≤13	14-18	≥19	≥32	-	≤16	La réponse pour l'acide nalidixique est valable pour la fluméquine
Acide oxolinique	10 µg	≤17	-	≥20	>4	-	≤ 2	
Enrofloxacine Espèce Aviaire (poulet et dinde)	5 µg	≤16	17-20	≥21	≥2	0,5-1	≤0,25	
		≤16	17-22	≥23	≥2	0,5-1	≤0,25	
Espèce féline et canine		≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0,5	
Marbofloxacine (même valeurs pour l'espèce féline et canine)	5 µg	≤14	15-19	≥20	≥4	2	≤1	
Danofloxacine (espèce bovine)	5 µg	-	-	≥22	-	-	≤0,25	
Colistine	10 µg	-	-	-	>2	-	≤2	
Nitrofurantoine**	300 µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32	
Chloramphénicol**	30 µg	≤12	13-17	≥18	32≥	16	≤8	

Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved standard –Third Edition M31-A3 .Vol.28 N° 8.Replaces M31-A2 .Vol.22 N° 6.February 2008.

*Antibiotique testé seulement pour la recherche des β-lactamases

** Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiosurveillance

ANNEXE V

Compositions des Milieu utilisés :

1) Milieu d'enrichissement :

BHIB (BRAIN HEART INFUSION BROTH):

- Cœur de bœuf 5g
- Cervelle de veau 12,5 g
- Glucose 2g
- Peptone 10g
- Chlorure de sodium 5g
- Sodium dihydrgenophosphore 2,5g
- Eau distillée 1L
- pH = 7,4

2) Milieux d'isolement :

a- gélose de Glucose- Lactose- Saccharose- H_2S / TSI (TRIPLE SUGAR IRON) :

La gélose TSI est un milieu d'identification rapide pour les entérobactéries, il permet de mettre en évidence la dégradation du glucose (avec ou sans production de gaz), du lactose, du saccharase et la production D'H_2S.

Composition :

- Peptone de viande 15g
- Proteose peptone 5g
- Extrait de viande 3g
- Extrait de levure 3g
- Glucose 1g
- Saccharose 10g
- Lactose 10g
- Citrate de fer ammoniacal 0,3g
- NaCl 5g
- Thiosulfate de sodium 0,3g
- Rouge de phénol 0,05g
- Agar 18g
- Eau distillée 1L
- pH =7,4

b- Milieu Urée- Indole :

- L-tryptophane 3g
- Phosphate dipotassique 1g
- Phosphate monopotassique 1g
- NaCl 5g

- Urée 20g
- Rouge de phénol 2,5g
- Eau distillée 1L
- pH = 6,7

c- Gélose Mac Conkey:

Milieu d'isolement des entérobactéries et permet la différentiation des bactéries lactose +, l'aspect des colonies *d'E. coli* sont rouges ou rose, pas mucoïde peut-être ronde avec un précipitas opaque de sels biliaires.

Composition :

- Gelysate 17g
- Polypeptone 3g
- Lactose 10g
- Sels biliaires 5g
- Chlorure de sodium 5g
- Gélose 12,5g
- Rouge neutre 0,04
- Ph = 7,4

d- Gélose nutritive:

Ce milieu convient à la culture des bactéries ne présentant pas d'exigences particulières, on l'utilise pour l'isolement d'un germe afin d'assurer sa pureté.

Composition :

- Peptone 15g
- Extrait de viande 1g
- Nacl 5g
- Agar 15g
- Eau distillée 1L
- pH = 7

e- Gélose Hektoen

Milieu d'isolement des entérobactéries et permet la différentiation des bactéries lactose +, l'aspect des colonies *d'E. coli* sont jaune saumon, et lactose - colonies vertes, production de H2S centre noirâtre.

- Protéose-peptone 12,0 g
- Extrait de levure : facteur de croissance 3,0 g
- Lactose : critère de différenciation 12,0 g
- Saccharose : critère de différenciation 12,0 g
- Salicine : critère de différenciation 2,0 g
- Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H2S 1,5 g
- Sels Biliaires : inhibiteur 9,0 g
- Fuchsine Acide : inhibiteur 0,1 g
- Bleu De Bromothymol : indicateur de pH 0,065 g

- Chlorure De Sodium : maintien de la pression osmotique 5,0 g
- Thiosulfate de sodium : précurseur d'H2S 5,0 g
- Agar 14,0 g
- pH = 7,6

3) Milieu pour sérotypage :

Gélose trypto caséine soja TSA :

La gélose Trypto-caséine soja (TSA) est un milieu universel convenant pour un large éventail d'emplois. Du fait de son excellente nutritivité, elle peut être utilisée, d'une part pour les culture et isolement des bactéries aérobies et anaérobies, d'autre part pour favoriser la croissance des germes particulièrement exigeants.

Composition :

Tryptone ..... 15,0 g
- Peptone papaïnique de soja ..... 5,0 g
- Chlorure de sodium ..... 5,0 g
- Agar agar bactériologique ..... 15,0 g
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,3 ± 0,2.

4) Milieu pour antibiogramme :

Mueller Hinton :

Utilisé pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes.

Composition :

- Extrait de viande 3g
- Hydrolysat acide de caséine 17,5g
- Amidon 1,5g
- Agar 16g
- Eau distillée 1L
- pH = 7,3

ANNEXE VI

CONTROLE DE QUALITE

Les milieux, galeries et réactifs font l'objet de contrôles de qualité systématiques aux différentes étapes de leur fabrication. Un contrôle bactériologique des tests de la galerie est de plus réalisable par l'utilisateur avec la souche

1. ***Escherichia coli ATCC® 25922*** de préférence ou l'une des souches suivantes :
2. ***Stenotrophomonas maltophilia*** **ATCC** 51331
3. ***Enterobacter cloacae*** **ATCC** 13047
4. ***Proteus mirabilis*** **ATCC** 35659
5. ***Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*** **ATCC** 35657

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H_2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO_2	N_2^*
1.	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-
2.	+	-	**V**	-	**V**	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.	+	+	-	**V**	+	-	-	-	-	+	-	+	+	**V**	+	+	+	+	+	+	+	-
4.	-	-	-	+	**V**	+	+	+	-		**V**	+	-	-	-	-	**V**	-	-	-	+	-
5.	+	-	+	-	+	-	**V**	-	-	**V**		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	**V**

- * le stade N_2 (+) peut être observé pour la souche ATCC 13047 et la souche ATCC 25922.
- Profil obtenue après 18-48H d'incubation pour les souches ATCC 51331, à partir de colonies cultivées sur gélose Trypcase Soja + sang.
- Profils obtenues après 18-24H d'incubation pour les autres souches, à partir de colonies cultivées sur gélose Trypcase Soja +sang.
- Suspension bactérienne préparée en API Nacl 0,85% Medium.

ANNEXE VII

CONTROLE DE QUALITE INTERNE :

Un contrôle de qualité interne doit être organisé pour s'assurer de la validité des résultats obtenus. Les souches de référence recommandées sont les suivantes : *Staphylococcus aureus* CIP 76.25 (ATCC 25923), *Escherichia coli* CIP 76.24 (ATCC 25922), *Streptococcus uberis* CIP 103219 (ATCC 19436) et *Pasteurella multocida* CIP 103286 (ATCC 43137).

Tableau IV : Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose (moyennes +/- 1 écart-type calculés sur un minimum de 600 tests)

Antibiotiques testés	Charge des disques	*E.coli* ATCC 25922	*P.aeruginosa* ATCC27853	*S.aureus* ATCC25923	*S.pneumoniae* ATCC 49619	*H. influenzae* ATCC49247
Pénicilline	10 UI	-	-	26-37	24-30	-
Pénicilline+Novobiocine	(10UI /30 µg)	-	-	30-36	24-30	-
Ampicilline	10 µg	16-22	-	-	30-36	13-21
Amoxicilline+Acide clavulanique	20/10 µg	18-24	-	28-36	-	15-23
Oxacilline	1 µg	-	-	18-24	-	-
Céfalotine	30µg	15-21	-	29-37	**26-32**	-
Céfotaxime	30µg	29-35	18-22	25-31	31-39	**31-39**
Céfoxitine	30µg	23-29	-	23-29	**31-39**	-
Céftiofur	30µg	26-31	14-18	27-31	-	-
Kanamycine	30µg	17-25	-	19-26	-	-
Gentamicine	10µg	19-26	16- 21	19-27	-	-
Sulfisoxazole	300 µg	15-23	-	24-34	-	-
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	23-29	-	24-32	**20-28**	24-32
Tétracycline	30µg	18-25	-	24-30	27-31	14-22
Acide Nalidixique	30µg	22-28	-	-	-	Non détermié
Enrofloxacine	5µg	32-40	15- 19	27-31	-	-
Marbofloxacine	5µg	29-37	20-25	-	-	-
Danofloxacine	5µg	29-36	18-25	24-31	-	-
Colistine	10µg	11-17	11-17	-	-	-
Furanes	300µg	20-25	-	18-22	23-29	-
Erythromycine	15µg	-	-	22-30	25-30	-
Chloramphénicol	30µg	21-27	-	19-26	23-27	-
Vancomycine	30µg	-	-	17-21	20-27	-
Clindamycine	2µg	-	-	24-30	19-25	-
Tilmicosine	15µg	-	-	17-21	-	-

ANNEXE VIII

Tableau V : Résultats de l'identification, antibiogramme et sérogroupage.

	AUG	AMP	CTX	CN	N	SXT	CS	F	C	NA	ENR	TE	sérogroupe	Taxon
1	I	R		S	R	R	S	S	R	R	R	R	O2 +	*E.coli 1*
2	R	R	+	S	I	S	S	S	S	R	I	R	O2 ++	*E.coli 1*
3	R	R		S	S	S	S	S	S	R	R	R		*C. brakii*
4	I	I		S	I	R	S	S	S	R	R	R	O78 +++	*E.coli 1*
5	S	I		S	S	R	S	R	S	R	R	R	O2++	*E.coli 1*
6	S	S		S	S	R	S	I	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
7	R	R		S	I	R	S	S	R	R	R	R	O2 +	*E.coli 1*
8	S	I		S	S	R	S	S	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
9	I	I		S	S	S	S	R	S	R	R	R	O78 ++	*E.coli 1*
10	S	R		S	S	R	S	R	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
11	I	I		S	R	R	S	S	S	R	I	R	O2 +	*E.coli 1*
12	R	R		S	R	R	S	R	S	R	R	R	O2 +	*E.coli 1*
13	R	R		S	R	R	S	R	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
14	R	I		S	S	S	S	I	S	R	R	R	O2 +	*E.coli 1*
15	R	R		S	S	R	S	R	R	R	R	R	O2 +	*E.coli 1*
16	R	R		S	S	R	S	S	S	R	S	R	O1 +++	*E.coli 1*
17	R	R		S	I	S	S	R	S	R	R	R	O2 +	*E.coli 1*
18	R	R		S	S	R	S	S	S	R	S	R	O1 +++	*E.coli 1*
19	R	R		S	S	R	S	S	S	R	S	R	O1 +++	*E.coli 1*
20	S	S		S	S	R	S	S	S	R	S	R	O1 +++	*E.coli 1*
21	R	R		S	S	R	S	R	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
22	R	R		S	I	R	S	S	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
23	R	R		S	S	R	S	S	S	I	I	I	O2 +++	*E.coli 1*
24	R	R		S	S	R	S	S	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
25	I	S		S	S	R	S	S	I	R	R	R	O2 +	*E.coli 1*
26	R	R		S	R	R	S	R	S	R	R	R	O78 +	*E.coli 1*
27	R	R		S	I	R	S	S	S	R	S	R	O2 +	*E.coli 1*
28	R	R		S	S	R	S	S	S	R	I	R	O2 +	*E.coli 1*
29	R	R		S	S	R	S	S	S	R	S	R	O2 +	*E.coli 1*
30	R	R		S	S	R	S	S	S	R	R	R	O78 +++	*E.coli 1*
31	R	R		S	S	S	S	R	S	R	R	R	O2 +	*E.coli 1*
32	R	R		S	S	R	S	S	S	R	R	R	O78 +++	*E.coli 1*
33	R	R		S	S	R	S	S	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
34	R	R		S	R	R	S	S	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
35	S	S		S	S	S	S	S	S	R	S	R	O2 +	*E.coli 1*
36	R	R		S	I	R	S	S	S	R	R	R	O2 +	*E.coli 1*
37	R	R		S	R	R	S	S	R	R	R	R	O2 +	*C. frendii*
38	R	R		S	S	R	S	S	S	R	R	R	O2 +	*E.coli 1*
39	R	R		S	S	S	S	S	S	R	S	R	O78 +++	*E.coli 1*

40	I	I		S	S	S	S	S	S	R	S	R	O78 ++	*E.coli 1*
41	R	R		S	I	R	S	S	S	R	S	R	O78 ++	*E.coli 1*
42	R	R		S	R	I	S	S	S	R	R	R	O1 +	*E.coli 1*
43	R	R		S	I	R	S	R	R	R	R	R	O1++	*E.coli 1*
44	R	R		S	I	R	S	S	S	R	S	R	O2+	*E.coli 1*
45	R	R		S	I	S	S	S	S	R	S	R	O2++	*E.coli 1*
46	R	I		S	S	S	S	S	S	S	S	R	O2+++	*E.coli 1*
47	R	R		S	R	R	S	I	S	R	R	R	O2+	*E.coli 1*
48	R	R		S	S	R	S	R	I	R	R	R	O2+	*E.coli 1*
49	R	R		S	I	R	S	R	S	R	R	R	O1++	*E.coli 1*
50	I	S		S	R	S	S	S	S	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
51	I	I		S	S	S	S	R	S	R	I	R	O2+	*E.coli 1*
52	R	R	+	S	S	R	S	R	R	R	R	R	O2+	*E.coli 1*
53	R	R		S	S	R	S	R	S	R	R	R	O78+	*E.coli 1*
54	R	R		S	R	R	S	R	S	R	R	R	O2+	*E.coli 1*
55	R	R		S	R	R	S	I	R	R	R	R	O2+	*E.coli 1*
56	R	R		S	R	R	S	I	R	R	R	R	O2+	*E.coli 1*
57	R	R		S	I	R	S	R	R	R	R	R	O78++	*E.coli 1*
58	R	R		S	R	R	S	S	S	R	S	R	O2+	*E.coli 1*
59	R	R		S	I	R	S	R	R	R	R	R	O2+	*E.coli 1*
60	R	R		S	I	R	S	R	S	R	R	R	O2+	*E.coli 1*
61	R	R		S	I	R	S	R	S	R	R	R	O2++	*E.coli 1*
62	R	R		S	S	R	S	S	S	R	R	R	O2++	*E.coli 1*
63	R	R		S	R	R	S	R	I	R	R	R	O2+	*E.coli 1*
64	S	S		S	S	S	S	R	S	R	I	R	O2++	*E.coli 1*
65	R	R		S	S	R	S	R	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
66	R	R		S	S	R	S	S	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
67	R	R		S	R	S	S	S	R	R	R	R	NT	*E.coli 1*
68	R	R		S	R	R	S	S	S	R	R	R	O1++	*E.coli 1*
69	R	R		S	S	R	S	R	S	R	R	R	O78+++	*E.coli 1*
70	R	R		S	R	R	S	R	R	R	R	R	O2++	*E.coli 1*
71	R	R		S	R	R	S	S	R	R	R	R	O2+	*E.coli 1*
72	R	R		S	S	R	S	I	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
73	S	S		S	S	S	S	R	S	R	S	R	O2++	*E.coli 1*
74	I	S		S	S	S	S	R	S	R	S	R	O1+	*E.coli 1*
75	R	R		S	I	R	S	I	R	R	R	R	O78++	*E.coli 1*
76	R	R		S	I	R	S	S	S	R	R	R	O2++	*E.coli 1*
77	R	R		S	R	R	S	R	S	R	I	R	O78++	*E.coli 1*
78	I	I		S	R	R	S	R	S	R	I	R	NT	*E.coli 1*
79	R	R		S	S	S	S	I	S	R	I	R	NT	*E.coli 1*
80	I	S		S	S	R	S	I	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
81	R	R		S	S	R	S	R	S	R	R	R	O78+++	*E.coli 1*
82	R	R		S	R	R	S	S	S	R	S	R	NT	*E.coli 1*

83	**R**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O1++**	***E.coli 2***
84														***C. frendii***
85	**R**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O78++**	***E.coli 1***
86														***E.vulneris***
87	**R**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O2+**	***E.coli 1***
88	**R**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**I**	**R**	**R**	**R**	**R**	**O1++**	***E.coli 1***
89	**R**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O2+**	***E.coli 1***
90	**R**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
91	**R**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**O2+**	***E.coli 1***
92	**R**	**R**	**+**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
93														***S.ODORIFERA 2***
94	**R**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O2+**	***Pantoe spp4***
95	**R**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O2+**	***E.coli 1***
96	**I**	**I**		**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O1+**	***E.coli 1***
97	**S**	**S**		**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O78++**	***E.coli 1***
98	**S**	**S**		**S**	**S**	**I**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O78++**	***E.coli 1***
99	**R**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O1++**	***E.coli 1***
100	**R**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
101	**R**	**R**		**S**	**R**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**S**	**R**	**O2+++**	***E.coli 1***
102	**R**	**R**		**R**	**R**	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
103														
104	**R**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O2+**	***E.coli 1***
105	**I**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**R**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
106	**R**	**R**		**R**	**R**	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
107	**R**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
108	**R**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
109														
110	**R**	**R**		**R**	**R**	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
111	**R**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O78++**	***E.coli 1***
112	**R**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
113	**S**	**I**		**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**O2+**	***E.coli 1***
114	**R**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**NT**	***E.coli 1***
115	**I**	**I**		**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
116	**R**	**R**		**R**	**I**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O1++**	***E.coli 1***
117	**S**	**S**		**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
118	**S**	**S**		**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
119	**S**	**S**		**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
120	**S**	**S**		**I**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O1+++**	***E.coli 1***
121	**R**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O1++**	***E.coli 1***
122	**R**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O2++**	***E.coli 1***
123	**R**	**R**		**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O78+++**	***E.coli 1***
124	**S**	**S**		**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**		***S.ser galinarum***
125	**R**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O1+++**	***E.coli 1***

126	R	R		S	S	R	S	R	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
127	R	R		S	S	S	S	S	S	R	I	R	O1+	*E.coli 1*
128	R	R		S	S	S	S	I	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
129	R	R		S	R	R	S	S	I	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
130	R	R		S	R	R	S	R	S	R	R	R	O78+++	*E.coli 1*
131	R	R		S	S	R	S	S	S	R	S	R	NT	*E.coli 1*
132	R	R		S	S	R	S	S	S	R	S	R	NT	*E.coli 1*
133	S	S		S	S	S	S	S	S	R	S	R	NT	*E.coli 1*
134	R	R		S	S	R	S	S	S	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
135	S	S		S	R	R	R	R	I	R	R	R		*P.mirabilis*
136	R	R		S	S	R	S	S	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
137	R	R		S	R	R	S	R	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
138	R	R		S	S	R	S	S	S	I	I	R	NT	*E.coli 1*
139	R	S		S	R	S	S	S	S	I	I	R	O1+	*E.coli 1*
140	R	R		S	R	R	S	R	R	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
141	R	R		S	S	R	S	R	R	R	R	R	NT	*E.coli 1*
142	R	R		S	R	R	S	R	R	R	R	R	NT	*E.coli 1*
143	R	R		S	R	R	S	R	R	R	R	R	NT	*E.coli 1*
144	R	R		S	S	R	S	R	R	R	R	R	NT	*E.coli 1*
145	R	R		S	S	R	S	S	S	R	R	R	078+++	*E.coli 1*
146	R	R		S	R	R	S	S	I	R	R	R	O1++	*E.coli 1*
147	R	R		S	R	R	S	R	I	R	R	R	O1+++	*E.coli 1*
148	R	R		S	R	R	S	I	S	R	R	R	O1+++	*E.coli 1*
149	S	S		S	R	S	S	R	S	R	I	R	O1++	*E.coli 1*
150	R	R		S	R	R	S	R	I	R	R	R	O78++	*E.coli 1*
151	R	R		S	R	S	S	R	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
152	R	R		S	R	R	S	S	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
153	R	R	+	S	S	R	S	S	S	R	R	R	O1++	*E.coli 1*
154	R	R		S	R	R	S	S	S	R	R	R	NT	*E.coli 1*
155	R	R		S	R	R	S	R	S	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
156	R	R		S	I	R	S	S	R	R	R	R	NT	*E.coli 1*
157	R	R		R	R	R	S	S	I	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
158	I	S		S	S	S	S	S	S	R	I	R		*AHCS2*
159	R	R		S	I	R	S	S	S	R	R	R	O78+++	*E.coli 1*
160	R	R		R	R	R	S	R	R	R	R	R	NT	*E.coli 1*
161	R	R		S	I	R	S	I	S	R	R	R	O78++	*E.coli 1*
162	R	R		S	I	R	S	I	R	R	I	R	O1+++	*E.coli 1*
163	R	R		R	I	R	S	R	R	R	R	R	O1++	*E.coli 1*
164	R	R		R	S	R	S	R	R	R	R	R	O1++	*E.coli 1*
165	R	R		R	S	R	S	R	R	R	R	R	O1++	*E.coli 1*
166	R	R		R	S	R	S	R	R	R	R	R	NT	*E.coli 1*
167	R	R		R	S	R	S	R	R	R	R	R		contamined
168	R	R		S	R	S	S	S	I	R	R	R	O1+	*E.coli 1*

169	R	R		S	I	R	S	S	S	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
170	S	S		S	S	S	S	S	S	S	S	S	O2+	*E.coli 1*
171	R	R		R	R	S	R	S	S	R	S	R	O2+	*E.coli 1*
172	R	R		S	S	R	S	R	S	R	R	R	O1+++	*E.coli 1*
173	R	R		S	I	S	S	S	S	R	S	R	O1+	*E.coli 1*
174	R	R		S	I	S	S	I	S	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
175	R	R		S	I	S	S	R	S	I	I	R		*E. cloacae*
176	R	R		S	I	R	S	S	R	R	R	R	O1+++	*E.coli 1*
177	R	R		S	R	R	S	R	R	R	R	R		*KLUYVERA SPP*
178	R	R		S	R	R	S	S	I	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
179	R	R		S	S	R	S	I	S	R	R	R		*K.oxytoca*
180	R	R		S	R	R	S	R	S	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
181	S	R		S	I	R	S	S	R	R	I	R	O1+	*E.coli 1*
182	S	R		S	I	R	S	S	R	R	R	R	O2++	*E.coli 1*
183	I	R		S	R	R	S	R	R	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
184	S	R		S	S	R	S	S	R	R	R	R	NT	*E.coli 1*
185	R	R		S	S	R	S	S	R	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
186	R	R		R	R	R	S	R	S	R	I	R	O2+	*E.coli 1*
187	R	R		S	S	R	S	R	R	R	R	R	NT	*E.coli1*
188	R	R		S	R	S	S	S	S	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
189	R	R		S	S	S	S	R	S	R	S	R	O1+	*E.coli 1*
190	R	R		S	R	R	S	S	S	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
191	R	R		S	I	R	S	I	R	R	R	R	O1++	*E.coli 1*
192	R	R		S	S	R	R	R	R	R	R	R		*P.mirabilis*
193	S	S		S	S	R	S	S	S	R	R	R		*S.ser galinarum*
194	S	S		S	S	R	S	S	S	R	R	R		*S.ser galinarum*
195	R	R		R	S	R	S	I	R	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
196	R	R		S	S	R	S	S	S	R	S	R	O78++	*E.coli 2*
197	R	R		S	S	R	S	I	S	R	S	R	NT	*E.coli 2*
198	R	R		S	S	R	S	R	R	R	R	R	O1++	*E.coli 1*
199	R	R		S	S	R	S	R	S	R	S	R	NT	*E.coli 2*
200	R	R		S	S	R	S	R	S	R	R	R	O1+++	*E.coli 1*
201	S	S		S	S	R	S	S	S	R	R	R		*S.ser galinarum*
202	S	S		S	S	R	S	S	S	R	R	R		*S.ser galinarum*
203	S	S		S	S	R	S	I	S	R	R	R		*S.ser galinarum*
204	R	R		S	S	R	S	S	S	R	R	I	O1+	*E.coli 1*
205	S	R		S	S	R	R	R	S	R	R	R		*P.mirabilis*
206	R	R		S	S	R	S	S	S	R	R	I	O1++	*E.coli 1*
207	I	R		S	S	R	R	R	S	R	R	R		*P.mirabilis*
208	I	R		S	S	R	S	S	S	R	I	R	O2++	*E.coli 1*
209	R	R		S	S	R	S	S	R	R	R	R	O1+	*E.coli 1*
210	R	R		S	R	S	S	S	S	R	R	R	O1++	*E.coli 1*
211	R	R	+	S	S	S	S	S	S	R	S	R	O78+++	*E.coli 1*

212	**R**	**R**	**+**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O78+++**	***E.coli 1***
213	**R**	**R**	**+**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O1++**	***E.coli 1***
214	**I**	**R**		**S**	**S**	**S**	**S**	**I**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O1+++**	***E.coli 2***
215	**S**	**R**		**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**R**	**O2+++**	***E.coli 2***
216	**I**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**		**S**	**O2+**	***E.coli 1***
217	**S**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**O1+**	***E.coli 1***
218	**R**	**R**		**S**	**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**R**	**I**	**R**	**NT**	***E.coli 1***
219	**S**	**S**		**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O78+++**	***E.coli 1***
220	**R**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**I**	**R**	**R**	**R**	**NT**	***E.coli 1***
221	**I**	**R**		**S**	**R**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**NT**	***E.coli 1***
222	**S**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**I**	**R**	**O2+**	***E.coli 1***
223	**I**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**		***E.FRRGUSSONI***
224	**S**	**S**		**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**		***P.mirabilis***
225	**R**	**R**		**S**	**S**	**R**	**S**	**S**	**S**	**R**	**R**	**R**	**NT**	***E.coli 1***

academicJournals

Vol. 9(49), pp. 2358-2363, 14 December, 2015
DOI: 10.5897/AJMR2015.7600
Article Number: F42E0BF56549
ISSN 1996-0808
Copyright © 2015
Author(s) retain the copyright of this article
http://www.academicjournals.org/AJMR

African Journal of Microbiology Research

Full Length Research Paper

Serogroups and antibiotics susceptibility pattern of avian pathogenic *Escherichia coli* strains responsible for colibacillosis in broiler breeding farms in the east of Algeria

Chafik Redha Messaï[1,2], Khatima Aït-Oudhia[1,2], Djamel Khelef[1,2]*, Taha Mossadek Hamdi[1,2], Nadia Safia Chenouf[3] and Mohamed Ramzi Messaï[4]

[1]High National Veterinary School of Algiers, BP 161 Hacène Badi, EL Harrach, Algiers, Algeria.
[2]Research Laboratory, Food Hygiene and Quality Assurance System (HASAQ), High National Veterinary School of Algiers, BP 161 Hacène Badi, EL Harrach, Algiers, Algeria.
[3]Exploration laboratory and recovery of steppe ecosystems, University of Ziane Achour Djelfa, Algeria.
[4]SAND George Hospital Centre, Service Chopin Bourges, France.

Received 28 May, 2015; Accepted 25 September, 2015

In East Algeria, 100 *Escherichia coli* strains were isolated from livers and spleens of 120 broiler carcasses that presented colibacillosis lesions at autopsy. Serogrouping of these strains demonstrated that 83% of their serogroups belong to the most pathogenic serogroups of Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC): O1 (14%), O2 (53%) and O78 (16%). *In vitro* susceptibility to antimicrobials of veterinary significance was determined by disc diffusion test. Antibiogram demonstrated a high level of resistance to enrofloxacin (82%), trimethoprim-sulfmethoxazole (82%), ampicillin (89%) and amoxicillin/ Ac clavulanic (90%), nalidixic acid (99%) and tetracycline (100%). There were moderate levels of resistance to neomycin (49%) and nitrofurantoin (53%). There were low levels of resistance to gentamicin (2%), chloramphenicol (13%) and no resistance to colistin sulfate (0%). All strains were multi-drug resistant and more than half (58%) of the isolates were resistant to seven antibiotics at least. Thus, thirty one antibiotic resistant patterns of *E. coli* strains were detected, of which 11 were present significantly. Co-resistance was found in eight of the eleven most common multidrug resistant patterns, 62% of the strains expressed this co-resistance. *E. coli* strains isolated expressed resistances to molecules that are routinely used in the field. It is clear that these are less effective against colibacillosis. It is more than ever necessary to perform antibiotic susceptibility testing prior to treatment in order to prescribe the molecule of choice, and set up a monitoring program in Algeria to monitor antimicrobial resistance in pathogenic bacteria that could be potentially transmitted to humans from animal food.

Key words: Algeria, antibiotic resistance, colibacillosis, *Escherichia coli*, serogroups.

INTRODUCTION

Changes in the poultry industry over the past few decades have largely contributed to its economic success. However, they have also created conditions favourable to contagious disease outbreaks. The increase in farm size, in regional farm density, and the increase in alternative poultry productions are among risk

factors that have led to the emergence and re-emergence of poultry diseases (Vaillancourt, 2009). Colibacillosis is the most frequently reported disease in surveys of poultry diseases or condemnations at processing (Saif, 2003). Avian colibacillosis is a bacterial disease, and it is referred to any localized or systemic infection caused entirely or partly by Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC), including colisepticemia, coligranuloma (Hjarre's disease), air sac disease (chronic respiratory disease, CRD), cellulites (inflammatory process), swollen-head syndrome, peritonitis, salpingitis, osteomyelitis/synovitis (turkey osteomyelitis complex), panophthalmitis, and omphalitis/yolk sac infection (Stordeur and Mainil, 2002; Saif, 2003; Robineau and Moalic, 2010). In broiler chickens, colisepticemia and air sacs disease are the most common forms of colibacillosis (Stordeur and Mainil, 2002; Saif, 2003). Several serogroups of APEC strains are known for their virulence. The first studies on avian *E. coli* by Sojka and Carnaghan (1961) showed that the most common serogroups were O1, O2, O35 and O78. More recently, studies of 112 *E. coli* strains isolated from cases of colibacillosis in Canada by Dozois et al. (1992) showed that 16 serogroups were represented including serogroups O78 (52%) and O1 (6%) which were the most frequent. Other significantly represented serogroups associated with avian colibacillosis are: O8, O15, O18, O35, O88, O109, O115 and O116 (Bree et al., 1989; Dho-Moulin et al., 1990; Babai et al., 1997; Blanco et al., 1997; Dho-Moulin and Fairbrother, 1999). Colibacillosis is an economical devastating disease in the poultry industry; it is the primary cause of morbidity, mortality and condemnation of carcasses in Algeria and many parts of the world (Dho-Moulin and Fairbrother, 1999; Delicato et al., 2003; Ewers et al., 2003; Hammoudi and Aggad, 2008). Colibacillosis is likely the primary cause of antibiotic treatment in poultry house, and the emergence of resistant strains is a legitimate concern (Robineau and Moalic, 2010). Antibiotic usage is considered the most important factor promoting the emergence, selection and dissemination of antibiotic-resistant microorganisms in both veterinary and human medicine (Neu, 1992; Witte, 1998). Resistance to two or more classes of antibiotics is now common in veterinary medicine, and the choice of antibiotic for treatment remains quite arbitrary. In Algeria, very little data are available in epidemiology of antimicrobial resistance of *E. coli* and serogroups from which they belong. Hence, the objective of our study was to get a better knowledge of *E. coli* isolates responsible for colibacillosis in broiler breeding farms. The present study determined serogroups and the sensitivity to 11 antibiotics among a collection of one hundred avian pathogenic *E. coli,* isolates from diseased birds diagnosed with colibacillosis in five cities in the east Algeria.

MATERIALS AND METHODS

Sampling method

From August to October 2014, 120 chicken carcasses were selected from twenty-four poultry houses (five broilers from each poultry house) implemented in the following cities of East Algeria (Setif, Batna, Mila, Constantine and Annaba). Size was 5000 broilers in each poultry house. They were at the end of breeding aged between 49 and 56 day old. The broilers chicken was ISA broiler F15 and Arbor Acres. Autopsies were performed in the slaughter house. Samples were collected weekly every Sunday. Five broilers from each poultry house with growth retardation or generalized carcass congestion were randomly selected and presented to autopsy.

Autopsy of broilers

The liver and spleen of each chicken having colibacillosis lesions (septicemia, airsacculitis, pericarditis and perihepatitis) were removed under sterile conditions. All samples (120 livers and 120 spleens) were placed in separate sterile plastic bags to prevent spilling and cross contamination and immediately transported to the laboratory in a cooler with ice packs (4°C).

Isolation and identification of *E. coli* isolates, media and growth requirements

The organs (liver and spleen) were flamed using a Bunsen burner and cut into small pieces. Enrichment was done by seeding pieces in the tubes of nutrient broth (Pasteur Institute of Algeria) and incubated aerobically at 37°C for 18 to 24 h. A drop of nutrient broth was inoculated with method of exhaustion on Mc Conkey (BiotechLab, Algeria) (selective medium for Gram-negative Enterobacteriaceae) and then incubated aerobically at 37°C for 18 to 24 h. Positive colonies have a diameter of 2-3 mm, light pink color (lactose +) and are surrounded by an opaque halo due to precipitation of bile salts. They are Gram negative, catalase positive and oxidase negative. These colonies were tested by the TSI medium (IPA, Algeria) and urea-indole medium (IPA, Algeria) before being confirmed as *E. coli* by biochemical identification tests using the API 20E system (Bio Mérieux, France).

Serogrouping

Serogrouping was performed by the rapid slide agglutination. The reaction involves the binding of specific antibodies present in the serum with bacterial antigens to form clumps visible to the naked eye. Materials: 1- A clean transparent plate with wells (2x4) (Citoglas, UK), 2– Reagents (Sera): monovalent serum against specific somatic antigen (lipo polysaccharide) of avian *E. coli* strain O1, O2 and O78 (Biovac, France), 3- The tested strains were cultivated on trypto-caseine soja medium (TSA Agar) (labodib, Algeria) overnight at 37°C, 4- Pasteur pipette, 5– Saline (0.9%). All components were brought to room temperature before use, excessive heat was avoided, especially from a light source. The

*Corresponding author. E-mail: khelefdjamelensv@gmail.com. Tel: (+213) 0773012972.

Author(s) agree that this article remains permanently open access under the terms of the Creative Commons Attribution License 4.0 International License

Table 1. Antibiotic resistance and serogroups of *E. coli* strains isolated.

Antibiotic	Number of strain (%) n=100				
	O1	O2	O78	Other serogroups	Total
Amoxicillin/Ac clavulanic (AUG,30 µg)	13 (92.8)	48 (90.5)	14 (87.5)	15 (88.2)	90 (90)
Ampicillin (AMP, 10 µg)	11 (78.5)	49 (92.4)	14 (87.5)	15 (88.2)	89 (89)
Tetracyclin (TE, 30 µg)	14 (100)	53 (100)	16 (100)	17 (100)	100 (100)
Nalidixic acid (NA, 30 µg)	14 (100)	52 (98.1)	16 (100)	17 (100)	99 (99)
Enrofloxacin (ENR, 5 µg)	9 (64.2)	44 (83.0)	13 (81.2)	16 (94.1)	82 (82)
Gentamicin (CN, 10 µg)	0 (0)	2 (3.7)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
Neomycin (N,30 µg)	5 (35.7)	32 (60.3)	6 (46.1)	6 (35.2)	49 (49)
Colistin Sulfate(CS, 10 µg)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Nitrofurantoin (F, 300 µg)	7 (50)	30 (56.6)	7 (43.7)	9 (52.9)	53 (53)
Trimethoprim-sulfmethoxazole (SXT, 25 µg)	12 (85.7)	42 (79.2)	13 (81.2)	15 (88.2)	82 (82)
Chloramphenicol (C, 30 µg)	2 (14.2)	19 (35.8)	1 (6.2)	1 (5.8)	23 (23)
Total number of isolates	14	53	16	17	100 (100)

bottles of sera were vigorously shaken before use to restore the suspension. Quality control: a - Control of reagents (sera) were deposited in a well with a drop of reagent (about 30 µl). One drop (approximately 30 µl) of saline was added. The reagent is consistent if there is no agglutination reaction after mixing. b - Control of bacterial culture in another well was placed by a drop of saline (about 30 µl). Using a Pasteur pipette or inoculating loop, 3-4 colonies were collected (colonies should be visible to the naked eye). Gently emulsify in the drop of saline. The bacterial culture is compliant if no agglutination occurs after mixing. The test can be done once these two quality controls are compliant.

Antimicrobial susceptibility test

Antibiotic sensitivity was determined by disc diffusion method (Bauer et al., 1966) on solid Mueller-Hinton medium (MH) (Pasteur institute of Algeria) according to the guidelines of the "Clinical Laboratory Standards Institute" CLSI (2008). *E. coli* ATCC 25922 was used as control. Susceptibility was tested against the following antibiotics discs: Ampicillin (AMP, 10 µg), amoxicillin/Ac clavulanic (AUG, 30 µg), chloramphenicol (C, 30 µg), colistin sulfate (CS, 10 µg), Neomycin (N, 30 µg), Nalidixic acid (NA, 30 µg), Enrofloxacin (ENR, 5 µg), tetracycline (TE, 30 µg), Nitrofurantoin (F, 300 µg), Trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT, 25 µg) and gentamicin (CN, 10 µg). Commercial antibiotic discs were purchased from Liofilchem, Italy (Ampicillin, amoxicillin/Ac clavulanic, chloramphenicol, colistin sulfate, trimethoprime/sulfaméthoxazole, Nalidixic acid), Bioanalyse, France (Gentamicin, tetracycline, nitrofurantoin), Bio-rad, France (Enrofloxacine and neomycin). The MH plates agar were incubated for 18 to 24 h at 37°C and the diameters of inhibition zones were interpreted by referring to the reading table of *Eenterobacteriaceae* as recommended by the Standardization of Susceptibility to the National Scale Human and Veterinary (2011).

RESULTS

One hundred *E. coli* strains were collected from 120 samples of livers and spleens, the susceptibility of these strains to each antimicrobial agent was tested and their serogroups are shown in Table 1. 83% of the 100 strains isolated in the study are among the most virulent serogroups of APEC: O1 (14%), O2 (53%), O78 (16%). The antibiotics to which there were very high levels of resistance, were in ascending order: enrofloxacin (82%), trimethoprim-sulfmethoxazole (82%), ampicillin (89%) and amoxicillin/ Ac clavulanic (90%), nalidixic acid (99%) and tetyracycline (100%). The antibiotics to which there were moderate levels of resistance, were in ascending order: neomycin (49%) and nitrofurantoin (53%). The antibiotics to which there were low levels of resistance, were in ascending order: Colistin sulfate (0%), gentamicin (2%), chloramphenicol (13%).

All isolated *E. coli* showed multi-drug resistance were resistant to 2 antibiotics or more as shown in Table 2, the highest multi-resistance rates are 26, 24 and 22% were recorded in strains resistant to 7, 6 and 8 antibiotics, respectively. A total of 31 antibiotic resistance patterns were distinguished. The most important are those designated in Table 3 as D, E, F, I and J. The most common multi-drug resistant profile among these isolates was profile I (13%), which was resistant to tetracycline, nalidixic acid, amoxicillin/Ac clavulanic, ampicillin, trimethoprim/sulfaméthoxazole, Enrofloxacine, nitro-furantoin, neomycin. Co-resistance to tetracycline-nalidixic acid- amoxicillin/Ac clavulanic- ampicillin-trimethoprim/sulfaméthoxazole - enrofloxacine was found in eight of the eleven most common multidrug resistant patterns, 62% of our strains express this co-resistance.

DISCUSSION

Among the 120 chicken carcasses autopsied, expressing lesions of colibacillosis, bacteriological analysis of livers and spleens got 100 positive cultures of *E. coli* (83.3%). In the remaining 20 cases (16.7%), bacterial cultures were negative. The negative cultures may result from drug intervention before referring the cases to the

Table 2. Strains of *E. coli* showing multi-drug resistance.

Number of antibiotics	Number of strains (n=100)	Percentage of strains resistant out of 11 tested
0	0	0
1	0	0
2	1	1
3	3	3
4	6	6
5	8	8
6	24	24
7	26	26
8	22	22
9	8	8
10	2	2
11	0	0

Table 3. The most frequent antibiotic resistance patterns of *E. coli* isolates (n=76).

Resistance patterns	Designation	Number of strains (%)
TE-NA-AUG-AMP-SXT	A	5 (5)
TE-NA-AUG-AMP-SXT-N	B	4 (4)
TE-NA-AUG-AMP-ENR-F	C	5 (5)
TE-NA-AUG-AMP-SXT-ENR	D	9 (9)
TE-NA-AUG-AMP-SXT-ENR-N	E	10 (10)
TE-NA-AUG-AMP-SXT-ENR-F	F	12 (12)
TE-NA-AUG-AMP-SXT-ENR-N-C	G	4 (4)
TE-NA-AUG-AMP-SXT-ENR-F-C	H	4 (4)
TE-NA-AUG-AMP-SXT-ENR-F-N	I	13 (13)
TE-NA-AUG-AMP-SXT-ENR-F-N-C	J	8 (8)
TE-NA-AUG-AMP-SXT-ENR-F-N-C-CN	K	2 (2)

TE: Tetracyclin NA: Nalidixic acid AUG: Amoxicillin/Ac clavulanic AMP: Ampicillin SXT: Trimethoprim-sulfmethoxazole F: Nitrofurantoin C: Chloramphenicol N: Neomycin ENR : Enrofloxacin CN: Gentamicin

laboratory, probably the chickens may be on treatment so there's no importance for the timeout of antibiotic treatment like that reported by Saberfar et al. (2008). The APEC are responsible for many forms of colibacillosis in chickens, and it is increasingly recognized that the possession of certain genes chromosomal or plasmid encoding the virulence factors gives APEC strains pathogenicity own due to their ability to survive in the host like that reported by Blanco et al. (1997), Stordeur and Mainil (2002) and Stordeur et al. (2003). Among the 100 *E. coli* isolated in our study, 83% belong to three serogroups O1, O2, O78 most virulent among the APEC, with the dominance of O2 with a rate of 53% followed by O78 (16%) and O1 (14%) while (17%) of our strains belong to other serogroups. Our observations are correlated with those reported by Blanco et al. (1997) and Dozois et al. (2000) and Mellata et al. (2003). Lafont et al. (1984) and Chulasiri and Suthienkul (1989) reported that characteristics of virulent *E. coli* in birds and other animals are often shared, and avian strains potentially can be a source of genes and plasmids that encode for antimicrobial resistance and virulence factors.

For the antibiotic resistance, these high rates of resistance to amoxicillin/clavulanic acid (90%) and ampicillin (89%) are probably related to the excessive and indiscriminate use of β-lactams antibiotics, and the diversity of mechanisms of resistance of *E. coli* as reported by Quintiliani and Courvalin (1995). Tetracycline (100%) is the oldest drug used, especially in therapy preventively and even as "growth factors", resulting in very high resistance in poultry as reported by Abdennebi (2006). For quinolone: Nalidixic acid (99%) and enrofloxacin (82%), these very high levels of resistance can be explained on one hand by the extensive use of

these molecules due to their large availability on the Algerian market, and especially by the presence of generics at affordable prices, and on the other hand with the fact that the quinolones share one and the same mechanism of action. Therefore, acquired resistance to one automatically confers resistance to other members of this family (cross-resistance). Baucheron et al. (2003) reported that two mutations in the gyrA gene and one or two mutations in the parC gene at the quinolone resistance determining region (QRDR) in *E. coli* strains of avian origin, give a high level of resistance to nalidixic acid and enrofloxacin. For sulfonamides, Trimethoprim/sulfamethoxazole (82%) is probably the consequence of the very important requirement of this anti-infective, used especially in the prevention of salmonella, and also during coccidiosis almost systematically used in combination with the anticoccidial treatment and prevention of the latter, leading to ineffectiveness against coliform. The abusive and anarchic use of the whole range of antibiotics available in Algeria is probably the major cause of the high percentages of resistance. In addition, lack of legislative restrictions of their use for therapy, prophylaxis, or growth promotion can be seen in the study of Hammoudi and Aggad (2008). Despite the fact that administration of chloramphenicol (13%) and nitrifurantoin (53%) is forbidden in veterinary, resistance to these antibiotics was high. This is probably due to persistence of previous resistances, a "cross" resistance or more likely to illegal use of these agents. The sensitivity of all strains to colistin sulfate could be explained by the moderate use of this molecule in poultry and these characteristics. In effect, this molecule does not cross the intestinal barrier and is inactive orally on systemic colibacillosis. Moreover, the resistance of Gram-negative bacteria is uncommon to colistin, even exceptional, and is chromosome-type. However, Garnacho-Montero et al. (2003) reported that chromosomal mutation is rare. The high sensitivity of *E. coli* strains to gentamicin is due to the non-use of this antibiotic in poultry farms and therefore no selection of resistant strains. In practice, there are constraints on its use, it is not available for poultry in Algeria and is used only for humans injectable form. Uninteresting for the farmers: the administration of this product requires a skilled workforce which can lead to stress and make the situation very delicate. The injections are not tolerated in chickens, especially with colibacillosis, as reported by Saberfar et al. (2008). Resistance was observed in all of the examined strains. This is similar to the findings of previous studies done in other countries by Blanco et al. (1997), Zahraei and Salehi (2006) and Saberfar et al. (2008). But our results were higher than those reported by Hammoudi and Aggad (2008) and Aggad et al. (2010) in Western Algeria.

Multi-drug-resistance appears as a veritable problem, as 100% of *E. coli* strains were resistant to at least two antibiotics, while over three quarters (82%) were resistant to at least 6 antibiotics, more than half (58%) were resistant to at least 7 antibiotics and more than a third (32%) were resistant to at least 8 antibiotics. Multi-resistance is probably due to the self-medication by breeders and alternating molecules before the first treatment gives these results. There is no importance attached to the processing delay. Indeed, numerous antibiotics are administrated often concomitantly for prophylaxis or infections. This indicates that the abusive and indiscriminate use of antibiotic is probably the genesis of the high incidence of antibiotic resistance and multi-resistances of *E. coli* in poultry breeding in Eastern Algeria. Such practices, especially without prior antibiotic sensitivity testing of bacterial isolates, may lead to the development of a pool of antibiotic-resistant genes and to the selection of increasing numbers of resistant *E. coli* clones, as reported by Hamoudi and Aggad (2008). The results of this multi-resistance were treatment failures, and consequently reduced production due to high levels of morbidity and mortality in poultry flocks.

In our study, 31 *E. coli* patterns were isolated, the most important are presented in Table 3 and designated A to K. the danger of *E. coli* strains expressing antibiotic resistant patterns D, E, F, G, H, I, J and K, with rates of 9, 10, 12, 4, 4, 13, 8 and 2%, respectively were must considered. These strains show resistance to 6, 7, 8, 9, 10 antibiotics, even to antibiotics regarded as the most active on *E. coli* strains, such as gentamicin, chloramphenicol and nitrofurans and neomycin. These strains could transfer their wide antibiotic resistant pattern via the exchange of genetic material. Bebora et al. (1994) and Davies (1994) indicated that antibiotic resistances are frequently encoded by conjugative plasmids or transposons, thus *E. coli* of avian origin could act as a possible source for the transfer of antibiotic resistances to other bacterial species, including human pathogens. Thus, an increase in the reservoir of antibiotic resistant bacteria could heavily impair the treatment of human diseases. Indeed, Van Den Boogard et al. (2001) identified similar antibiotic resistant patterns present in *E. coli* isolated from people who worked with these birds, and, in some instances, specific strains were shared among the birds and workers. These findings indicate that transmission of antibiotic resistance by organisms that affect chickens to humans is common.

In this study, co-resistance to tetracycline - nalidixic acid- amoxicillin/Ac clavulanic-ampicillin- trimethoprim/ sulfaméthoxazole - enrofloxacine was found in *E. coli* strains expressing antibiotic resistant patterns D, E, F, G, H, I, J and K. This co-resistance is present in 11 out of 13 most important multidrug resistant profiles and more than half 62% of our strains express it. The consequence of this genetic organization is the co-selection: a class of antibiotics to which the bacteria are resistant may select resistance to unrelated classes of antibiotics, thus generating a wide resistant phenotype of bacterium like that reported by Courvalin (2008).

Conflict of interests

The authors have not declared any conflict of interest.

REFERENCES

Abdennebi EH (2006). Antibactériens en médicine vétérinaire. Actes Editions Maroc. 303p.

Aggad H, Ahmed Ammar Y, Hammoudi A, Kihal M (2010). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens with colibacillosis. Glob. Vet. 4(3):303-306.

Babai R, Blum-Oehler G, Stern BE, Hacker J, Ron EZ (1997). Virulence patterns from septicemic *Escherichia coli* 078 strains. FEMS Microbiol Lett. 149:99-105.

Baucheron S, Mouline C, Payot S, Cloeckaert A, Chaslus-Dancla E (2003). Mécanismes de résistance aux quinolones des *Escherichia coli* aviaires). FNRA. Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours. France.

Bebora LC, Oundo JO, Yamamoto H (1994). Resistance of *Escherichia coli* strains recovered from chickens to antibiotics with particular reference to trimethoprim-sulfamethoxazole (septrin). East Afr. Med. J. 71:624-627.

Blanco JE, Blanco M, Mora A, Blanco J (1997). Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. J. Clin. Microbiol. 35(8):2184-2185.

Bree A, DHO-Moulin M, Lafont JP (1989). Comparative infectivity for axenic and specific pathogen free chickens of 02 *Escherichia coli* strains with or without virulence factors. Avian Dis. 33:134-139.

Chulasiri M, Suthienkul O (1989). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens. Vet. Microbiol. 21:189-194.

CLSI (2008). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated fromanimals. 3rd Edn., Approved Standard, CLSI Document M31-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute,Wayne, PA.

Courvalin P (2008). La résistance des bactéries aux antibiotiques: Combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. Bull. Acad. Vét. France 161(1):7-12.

Davies J (1994). Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. Science 264:375-382.

Delicato ER, DeBrito BG, Gaziri LCJ, Vidotto MC (2003). Virulence associated genes in *Escherichia coli* isolates from poultry with colibacillosis. Vet. Microbiol. 94:97-103.

Dho-Moulin M, Fairbrother JM (1999). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). Vet. Res. 30:299-316.

Dho-Moulin M, Van Den Bosch JF, Girardeau JP, Bree A, Barat T (1990). Surface antigens from *Escherichia coli* 02 and 078 strains of avian origin. Infect. Immun. 58:740-745.

Dozois CM, Dho-Moulin M, Bree A, Fairbrother JM, Desautels C, Curtis III R (2000). Relationship between the Tsh autotransportcr and pathogenicity of avian *Escherichia coli* and localization and analysis of the tsh genetic region. Infect. Immun. 68:4145-4154.

Dozois CM, Fairbrother JM, Harel J, Bosse M (1992). Pap- and pil-related DNA sequences and other virulence determinants associated with *Escherichia coli* isolated from septicemic chickens and turkeys. Infect. Immun. 60:2648-2656.

Ewers C, Janssen T, Wieler LH (2003). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 116:381-395.

Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Jimenez-Jimenez FJ, Barrero-Almodovar AE, Garcia-Garmendia JL, Bernabeu-Winttell M, Gallego-Lara SL, Madrazo-Osuna J (2003). Treatment of multdrug-resistant Acinetobacter baumanii ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous Colistin: a comparison with imipcnem-susccptiblc VAP. Clin. Infect. Dis. 36(9):1111-1118.

Hammoudi A, Aggad H (2008). Antibioresistance of *Escherichia coli* Strains Isolated from Chicken Colibacillosis in Western Algeria. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 32(2):123-126.

Lafont JP, Bree A, Plat M (1984). Bacterial conjugation in the digestive tracts of gnotoxenic chickens. Appl. Environ. Microbiol. 47:639-642.

Mellata M, Dho-Moulin M, Dozois CM, Curtiss III R, Brown PK, Arne P, Bree A, Desautels C, Fairbrother JM (2003). Role of virulence factors in resistance of avian pathogenic *Escherichia coli* to serum and in pathogenicity. Infect. Immun. 71:536-540.

Neu HC (1992). The crisis in antibiotic resistance. Science 257:1064-1073.

Quintiliani R Jr, Courvalin P (1995). Mechanisms of resistance to antimicrobial agent. In: Manual of Clinical Microbiology, Edited by Murry et al., 6* Edition, American Society of Microbiology Press. pp. 1308-1326.

Robineau B, Moalic PY (2010). Une maladie d'actualité en production aviaire: La colibacillose. Bull. Acad. Vét. France 163(3):207-212.

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

Saif YM (2003). Disease of poultry. 11th edition. Lowa State press, A Black well publishing company. pp. 631-652.

Sojka WJ, Carnaghan RBA (1961). *Escherichia coli* infection in poultry. Res. Vet. Sci. 2:340-353.

Standardization of susceptibility to the national scale Human, Veterinary (2011): Algerian network monitoring the resistance of bacteria to antibiotics. With the collaboration of World Health Organization, 6th edition. 192p.

Stordeur P, Beaupain N, Mainil J (2003). Caractérisation génotypique de souches invasives aviaires *d'Escherichia coli* isolées en Belgique. Ann. Méd. Vét. 147:275-280.

Stordeur P, Mainil J (2002). La colibacillose aviaire. Ann. Méd. Vét. 146:11-18.

Vaillancourt JP (2009). Une approche régionale à la biosécurité: l'exemple avicole. Bull. Acad. Vet. France 162(3):257-264.

Van Den Bogaard AE, London N, Driessen C, Stobberingh EE (2001). Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry fanners and poultry slaughterers. J. Antimicrob. Chemother. 47:763-771.

Witte W (1998). Medical consequences of antibiotic use in agriculture. Science 279:996-997.

Zahraei ST, Salehi FB (2006). Antibiotics susceptibility pattern *of Escherichia coli* strains isolated from chickens with coli septicemia in Tabriz Province, Iran. Int. J. Poult. Sci. 5(7):677-684.