

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du
Diplôme de Master Vétérinaire

THÈME : LA COLIBACILLOSE AVIAIRE :

Sérotypage et antibiorésistance des souches E.coli aviaire isolées dans quelques élevages de poulet de chair de l'est algérien

Présenté par : HAOU Aimen

TOBBAL Salah Eddine

Soutenu le : 16 \ 01 \ 2020

Devant le jury composé de:

- | | | |
|-------------------------------|------------|------------|
| - Président : Pr KHELEF D. | Professeur | ENSV Alger |
| - Promoteur : Dr MESSAI C.R. | MCA | ENSV Alger |
| - Examineur 1 : Dr MIMOUNE N. | MCA | ENSV Alger |
| - Examineur 2 : Dr SALHI O. | MCB | ISV Blida |

Année universitaire : 2019 \ 2020

Remerciements

Nous remercions en premier lieu, Dieu le clément et miséricordieux, qui par sa grâce, nous a permis de réaliser ce modeste travail.

*Nous remercions sincèrement **Pr KHELEF**, l'enseignant et la personne, pour avoir accepté de présider notre jury, qu'il trouve en ce modeste travail l'expression de notre profond respect.*

*A **Dr MIMOUNE**, qui a bien accepté d'examiner notre travail, et à qui nous adressons nos remerciements, vous étiez toujours une chère enseignante.*

*A **Dr SALHI**, qui a accepté d'examiner ce travail, à qui nous devons toute notre gratitude.*

*On adresse nos remerciements à notre promoteur **Dr MESSAI**, pour avoir dirigé notre présent travail, pour ses encouragements et son sourire rassurant. Qu'il veuille bien recevoir ici l'hommage de notre profond respect*

Nous tenons à remercier tous le personnel de l'ENSV, pour leur aide et leur patience, et surtout les responsables du service de la bibliothèque.

Amicalement, nous remercions tous les étudiants de la promotion 2014, pour leur présence et soutien.

Que soit associé à ces remerciements, l'ensemble du corps enseignant de l'ENSV qui nous a accompagné dans notre cursus de 5 ans.

Ainsi à toute personne qui nous a aidé à effectuer ce travail.

Merci

Dédicace

Je dédie ce modeste travail en signe de reconnaissance aux personnes les plus chères de ma vie, qui m'ont soutenu durant toute ma période d'étude, avec tous leurs conseils, et leur patience.

À mes très chers parents HASSINA et MALEK

Pour leurs sacrifices et leur soutien durant toute ma vie, rien ne saurait exprimer mon respect et mon amour éternel.

À ma sœur adorable Imene.

La personne qui m'a toujours poussé vers le meilleur. La femme qui m'aspire toujours ; tu resteras la plus gentille du monde.

À mon frère aimé : Abdenour et à mes spéciaux Mohammed Cherif et Kamel Eddine

Qui grâce à leurs encouragements, je suis devenu ce que j'ai toujours souhaité.

À toute la famille TOBBAL et GHELDANE hommes, femmes et enfants.

Au meilleur binôme du monde : Aimen

Le plus gentil et compréhensif ainsi qu'à toute sa famille.

Aux filles des moutchous les plus respectueuses :

Nessrine, Bouchra, Marwa et Serine qui m'ont accompagné durant mon cursus.

À mes aînés

Kheiro, Islem qui étaient toujours présents pour moi.

Aux garçons d'ENSV

Merouane, Mourad, Rafik, Mounir, Yacine, et à Tout le reste.

Aux filles d'ENSV

Soumia, Warda, les copines et Hadjer .

À Dr Ghada la meilleure que j'ai jamais eu.

À mon club CSCS.

À mes amis du quartier et du lycée.

À mon promoteur Monsieur MESSAI

À qui je dois toute la gratitude et le respect

À mes enseignants

Mon profond respect

Salah Eddine

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers.

A ma chère mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect. Je vous remercie pour tous le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance, que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux et le fruit de vos innombrables sacrifices. Que dieux, le très haut, vous protège et vous accorde une longue vie.

A mon cher père

Ce travail est dédié à mon père qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. Autant de phrases et expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance.

A mes chers frère et sœur Achraf et Nadine

Qui ont toujours partagé avec moi tous mes succès et m'ont toujours poussé à aller plus

A La mémoire de mon oncle Fouad

Que dieux garde son âmes dans son vaste paradis.

A toute ma famille maternelle et paternelle

J'espère que je vous ai honoré

A ma chère Manel

Pour ton soutien moral et ta présence continuelle près de moi dans les moments les plus difficiles, qui me permettais toujours de donner à fond

A mon binôme Salah Eddine

Tu étais professionnel dans ton travail et agréable comme personne

*A tous mes amis plus particulièrement Kamel, Mohamed, Yacine,
Karim, Raouf, Fouad, Nassim, Wail ...*

*Je vous remercie pour les moments incoubliables que nous avons partagé ensemble pendant
ces 5 ans*

A ma promotrice

Vous étiez très gentille avec nous, très professionnelle dans le travail

A mes professeurs de l'école

j'ai beaucoup appris de vous durant ces 5 ans

Aymen

Liste des figures

Figure 1 : Structure et aspect microscopique des entérobacteriaceae.....	5
Figure 2 : Modèle physiopathologique des infections causées par 5 pathovars connus d'E. coli responsables d'infections intestinales.....	10
Figure 3 : Différents modes d'action des antibiotiques.....	24
Figure 4 : Action des antibiotiques sur la synthèse protéique.....	26
Figure 5 : Modification de la cible.....	31
Figure 6 : Excrétion de l'antibiotique par efflux actif.....	32
Figure 7 : Situation des élevages.....	33
Figure 8 : L'autopsie.....	35
Figure 9 : Observation des colonies.....	36
Figure 10 : Ensemencement sur milieu Muller-Hinton.....	41
Figure 11 : Réactifs monovalents <i>E.coli</i> aviaire.....	43
Figure 12 : Lame de sérotypage 8 puits.....	43
Figure 13 : photo du sac aérien (SA).....	45
Figure 14 : Lésion d'aérosacculite fibrineuse (ASF).....	45
Figure 15 : Péricardite.....	46
Figure 16 : Péricardite.....	46
Figure 17 : Foie congestionné.....	47
Figure 18 : dégénérescence hépatique (DH).....	47
Figure 19 : Rate hypertrophiée	47
Figure 20 : Nécrose au niveau de la rate.....	47

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractères différentiels des genres de la tribu des Escherichiae.....	06
Tableau 2 : Diagnostic différentiel de la colibacillose aviaire.....	19
Tableau 3 : Origine des sujets.....	33
Tableau 4 : Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme.....	42
Tableau 5 : Application des disques d'antibiotique par boîte de Pétri.....	42
Tableau 6 : Pourcentages des résistances des souches <i>E .coli</i> isolées N=30.....	50
Tableau 7 : Fréquence des antibiorésistances dans notre étude et pour d'autres études en Algérie.....	51
Tableau 8 : Fréquence des antibiorésistances dans d'autres études étrangères.....	57
Tableau 9 : Pourcentages de multirésistances des souches <i>E.coli</i> isolés aux antibiotiques testés N=30.....	58
Tableau 10 : Fréquence des multirésistances dans notre étude et pour d'autres études en Algérie.....	59
Tableau 11 : Principaux antibiotypes d' <i>E. coli</i> isolés.....	60

Abréviations

VP : réaction de Voges-Proskauer
ADH : arginine dihydrolase
ODC : ornithine décarboxylase.
LPS: lipopolysaccharide
E.COLI : Escherichia coli
ECEP : E. Coli entéropathogènes
ECET : E. coli entérotoxigènes
ECEI : E. Coli entéroinvasifs
ECEH : E. Coli entérohémorragiques
ECEAg : E. Coli entéroagréatifs
STEC : SHIGA toxine E. Coli
APEC : Escherichia coli pathogènes aviaires
EXPEC : E. Coli pathogènes extra intestinale
SHU : Syndrome hémolytique et Urémique
VT : Vérotoxines
TDA : Tryptophane Désaminase
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
STX : Shiga toxine
GRAM- : Gram négative
SPP : sous espèce
ATB : Antibiotique
D-ala-D-ala : D- ananyl-D-alanine
PLP : protéine liaison pénicilline
S : Sensible
I : Intermédiaire
R : Résistante
API 20 E : Api 20 Entérobactéries
MC FARLAND : Mac Farland
P : Seuil de signification
ADN : Acide Désoxyribo Nucleique
ARN : Acide Ribo Nucleique

Abréviations

BHIB : Brain Heart Infusin Borth

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

AUG : Amoxicilline/Acide clavulanique

AMP : Ampicilline

C : Chloramphénicol

CS : Colistine

N : Néomycine

CN : Gentamicine

SXT : Trimétoprime_ Sulfaméthazole

F : Nitrofurane

TE : Tétracycline

NA : Acide Nalidixique

ENR : Enrofloxacin

Symboles

°C : Degré Celsius

< : Supérieur

> : Inférieur

% : Pourcentage

° : Degré

Sommaire

Introduction	1
Partie bibliographique	
Chapitre I : Bactériologie générale	
I.1. Introduction	3
I.2. Historique	3
I.3. Taxonomie	3
I.4. Habitat	3
I.5. Caractères bactériologiques et immunologiques	4
I.5.1. Caractères morphologiques et culturels	4
I.5.2. Caractères biochimiques	5
I.5.3. Caractères antigéniques	6
I.6. Substances biologiquement actives	7
I.7. Pouvoir pathogène et souches d'E. Coli	7
I.7.1. Infections extra-intestinales	8
I.7.1.1. Infection des voies urinaires	8
I.7.1.2. Infections méningées	8
I.7.1.3. Septicémie	8
I.7.2. Infections intestinales	8
I.8. Sensibilité aux antibiotiques	10
Chapitre II : Les infections à Escherichia coli	
II.1. Introduction	11
II.2. Historique	11
II.3. Définition	11
II.4. Caractères microbiologiques généraux de l'agent causal	11
II.4.1. Facteurs de virulence	11
II.4.1.1. Les adhésines	11
II.4.1.2. L'aérobactine	12
II.4.1.3. Les toxines	12
II.4.1.4. L'hémagglutine	12
II.4.1.5. Résistance à l'effet bactéricide du sérum	12
II.4.1.6. La colicine	12
II.4.2. Rôles des facteurs de virulence dans la pathogénie	12
II.5. Épidémiologie	13

II.5.1.Descriptive	13
II.5.1.1.Espèces affectées et répartition géographique.....	13
II.5.1.2.Les facteurs favorisants et prédisposants	13
II.5.1.3.Importance économique	13
II.5.1.4.Importance sanitaire et impact sur la santé publique	14
II.5.2. Analytique	14
II.5.2.1.Réservoirs	14
II.5.2.2.Sources d'infection.....	14
II.5.2.3.Sources de contaminations	14
II.5.2.4.Voies d'entrée et modes de transmission	15
II.6. Pathogénie.....	15
II.7. Les infections à E. coli.....	15
II.7.1.Omphalite / inflammation du sac vitellin	16
II.7.1.1.Aspect clinique et lésionnel.....	16
II.7.2.Colibacillose respiratoire.....	16
II.7.2.1.Sur le plan clinique.....	17
II.7.2.2.Sur le plan lésionnel	17
II.7.3.Colisepticémie	17
II.7.3.1.Sur le plan clinique et lésionnel	17
II.7.4.Formes localisées	18
II.7.4.1.Dermatite nécrotique	18
II.7.4.2.Le syndrome de la grosse tête	18
II.7.5.Formes chroniques	18
II.7.5.1.La coligranulomatose	18
II.7.5.2.Arthrites et synovites.....	18
II.7.5.3.Panophtalmie	19
II.7.5.4.Méningite.....	19
II.7.5.5.Entérite	19
II.8. Diagnostic.....	19
II.8.1.Clinique et lésionnel.....	19
II.8.2.Diagnostic différentiel.....	19
II.8.3.Diagnostic de laboratoire.....	20
II.9. Pronostic.....	20
II.9.1.Médical	20
II.9.2.Économique.....	20
II.10. Traitement	20

II.11. Prophylaxie et contrôle de la maladie	21
II.11.1. Sanitaire.....	21
II.11.2. Médicale	21
 Chapitre III : Les antibiotiques et l'antibiorésistance	
III.1.1 Introduction.....	22
III.1.2. Historique	22
III.1.3. Définition	22
III.1.4. Caractéristiques	22
III.1.4.1. Toxicité sélective	22
III.1.4.2. Spectre d'activité.....	23
III.1.4.3. Activité antibactérienne	23
III.1.4.3.1. Effet bactériostatique	23
III.1.4.3.2. Effet bactéricide	24
III.1.5. Classification	24
III.1.6. Mode d'action des principales familles d'antibiotiques.....	24
III.1.6.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane	24
III.1.6.1.1. β -Lactamines.....	25
III.1.6.1.2. Glycopeptides.....	25
III.1.6.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique	25
III.1.6.2.1. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome	26
III.1.6.2.1.1. Aminosides.....	26
III.1.6.2.2. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome.....	26
III.1.6.2.3. Antibiotiques inhibant le facteur d'élongation G	27
III.1.6.3. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques.....	27
III.1.6.3.1. Sulfamides et triméthoprimé	27
III.1.6.3.2. Quinolones	27
III.1.6.3.3. Nitrofuranes et Nitro-imidazoles	27
III.1.6.4. Antibiotiques agissant sur les membranes	28
III.1.6.4.1. Les Polymyxines	28
III.2.1. Introduction	29
III.2.2. Historique	29
III.2.3. Définition	29
III.2.4. Les différents types de résistance	29
III.2.4.1. La résistance naturelle.....	29
III.2.4.2. La résistance acquise.....	29

III.2.5. Biochimie de la résistance.....	30
III.2.5.1. Résistance croisée	30
III.2.5.2. Co-résistance	30
III.2.6. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques.....	30
III.2.6. 1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique	30
III.2.6.2. Modification de la cible	30
III.2.6. 3. Diminution de la perméabilité.....	31
III.2.6. 4. Excrétion par efflux	31
III.2.7. Mécanisme génétique de la résistance.....	31
III.2.8. Conséquence de la résistance aux antibiotiques	32

Partie expérimentale

I. Objectif.....	33
II. Lieu et période de l'étude.....	33
III. Matériels et méthodes	34
III.1. Matériels.....	34
III.1.1. Echantillonnage et prélèvement	34
III.1.2. Milieux de culture	34
III.1.3. Produits de laboratoire	34
III.2. Méthodes	35
III.2.1. Autopsie	35
III.2.2. Bactériologie	36
III.2.3. Tests de caractérisation sérologiques des bactéries ou la sérotypie par la méthode d'agglutination rapide sur lame.....	43
III.2.4. Analyse statistique	44
IV. Résultats et Discussion	45
IV.1. Lésion d'autopsie.....	45
IV.1.1. Aérosacculite	45
IV.1.2. Péricardite	46
IV.1.3. Perihépatite	46
IV.1.4. Congestion de la rate.....	46
IV.2. Bactériologie	48
IV.2.1. Isolement et identification des <i>E. coli</i>	48
IV.2.2. Sérotypage	48
IV.3. Antibiogramme	49
IV.3.1. Exposition de la situation générale des différents antibiotiques.....	49

Sommaire

IV.3.2. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques	52
IV.3.3. Les multirésistances :.....	57
IV.3.4. Les profils de résistances (Les antibiotypes)	60
Conclusion et recommandations	62

Introduction

La résistance aux antibiotiques chez les animaux d'élevage a toujours été une préoccupation depuis des années. En effet, de plus qu'elle peut être la cause d'échecs thérapeutiques en médecine vétérinaire, elle peut également poser un problème de santé publique, celui de la capacité de transférer cette résistance aux humains (AFSSA, 2006).

L'OMS estime que l'antibiorésistance est à l'origine de 700 000 décès chaque année, et qu'en l'absence d'actions coordonnées et efficaces, ce phénomène entrainera la mort de 10 millions de personnes par an d'ici 2050. Ce constat alarmant fait appel à des plans afin d'optimiser l'usage des antibiotiques en médecines humaine et vétérinaire, notamment chez tous les animaux d'élevage.

Parmi une multitude d'espèces bactériennes, nous avons choisi d'évaluer les niveaux de résistance d'*Escherichia coli* d'origine aviaire vis-à-vis les antibiotiques. Cette bactérie est considérée comme un bon indicateur de l'évolution de l'antibiorésistance. C'est également le germe le plus couramment identifié aux laboratoires et représente 70 % des isolats chez les volailles. Cette espèce animale constitue l'un des principaux réservoirs d'entérobactéries et se trouve par conséquent souvent incriminée dans de nombreuses toxi-infections alimentaires collectives (Hammoudi et Aggad, 2008).

Les colibacilloses aviaires sont parmi les pathologies dominantes rapportées dans les élevages. Elles sont considérées comme la principale cause des saisies au niveau des abattoirs (Barnes *et al.*, 2003). Ces infections sont causées par des *Escherichia coli* du pathovar APEC (Avian Pathogenic *E. coli*). Elles sont souvent secondaires à des infections virales (Newcastle, Bronchite infectieuse...) et bactériennes (Mycoplasme...) ou à des causes non infectieuses comme les erreurs d'élevage. Elles sont responsables d'infections extra-intestinales comme la septicémie, les cellulites et des affections respiratoires (Stordeur et Mainil, 2002).

L'importance économique des colibacilloses aviaires se traduit par des mortalités, de la diminution des performances, des troubles divers de la production et des coûts élevés en prévention et de traitement (Stordeur et Mainil, 2010). Le contrôle des colibacilloses aviaires est principalement assuré par l'antibiothérapie utilisée, soit en prévention lors des atteintes virales ou en traitement curatif.

L'utilisation abusive des antibiotiques dans les élevages sans recours à l'antibiogramme est mise en cause dans la sélection de souches bactériennes résistantes à un ou plusieurs antibiotiques. Ce phénomène de résistance d'*E. coli* aux antibiotiques est de plus en plus marqué et le mécanisme est assez complexe.

Dans ce cadre, plusieurs études ont été déjà menées dans différentes régions du monde notamment en Algérie par Messaï et *al.*, (2013 ; 2015), Faci et Benbegri (2014) et Hafri et *al.*, (2017), où ils ont déterminé la fréquence de résistance des souches *E. coli* à 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.

Dans notre travail nous voulons élargir l'étude sur des souches d'*E.coli* isolées à partir des sujets provenant des Wilayas de Annaba, Sétif et Mila. L'objectif de cette étude consiste à identifier des souches d'*E. coli* et d'évaluer leur antibiorésistance vis-à-vis de douze molécules d'antibiotiques couramment utilisées.

Ce travail est structuré en deux grandes parties :

Une première partie de synthèse bibliographique subdivisée en trois chapitres :

- Le premier consiste à une présentation des généralités bactériologiques de ce germe en se basant en particulier sur les caractères culturels et biochimiques ;
- Le deuxième chapitre porte sur la colibacillose aviaire et les différentes formes cliniques rencontrées chez le poulet de chair ;
- Et le troisième chapitre qui traite les antibiotiques d'une manière générale ainsi que les différents mécanismes de l'antibiorésistance.

La deuxième partie consacrée à l'étude expérimentale commence d'abord par une description de la zone d'étude, du matériel et méthodes, les résultats et discussion et complétée par une conclusion et des recommandations.

I.1. Introduction

Escherichia coli ou « colibacille » est l'hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud (Delarras, 2007). L'établissement de cette bactérie dans le tractus digestif s'effectue durant les heures qui suivent l'accouchement ou l'éclosion (Mühldorfer et *al.*, 1996).

Elle constitue l'espèce dominante de la flore intestinale. On trouve une variété de clones comprenant des souches hautement pathogènes et des souches commensales non pathogènes. (Mühldorfer et *al.*, 1996). Elle est aussi connue comme étant un germe indicateur de contamination fécale dans les eaux et les aliments (Delarras, 2014).

I.2. Historique

Escherichia coli a été initialement isolé et décrit par le pédiatre Allemand Théodore Escherich, en 1885. Celui-ci a démontré son existence comme hôte normal de l'intestin de l'enfant et pour marquer à la fois ce tropisme et la fréquence de son isolement, il l'a appelé *Bacterium coli* commune, ce que l'on peut traduire par «bactérie commune du colon» (Cohen et Karib , 2006).

C'est en 1919, que Castellani et Chalmers lui ont donné son nom définitif en hommage à Escherich. *Escherichia* est ensuite devenu le genre-type de la famille des *Enterobacteriaceae* et *E. coli* l'espèce type de ce genre (Cohen et Karib, 2006).

En 1971, H.W. Smith décrit la souche d'*Escherichia coli* H19 qui avait été isolée en 1967 à partir des selles d'un nourrisson souffrant de diarrhée. Cette souche appartient au sérotype 026 :K60 :H11 (Pohl et *al.*, 1991).

I.3. Taxonomie

Escherichia coli, appelé communément colibacille (Barnes et *al.* , 2003), appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, classe des *Gammaproteobacteria* et phylum XII : *Proteobacteria*. (Delarras, 2014).

I.4. Habitat

Escherichia coli est une hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux. Sa présence dans l'environnement est le témoin d'une contamination fécale ; c'est pourquoi, on procède systématiquement à sa détection dans les eaux d'alimentation ou baignades (colimétrie) (Fauchère , 2002).

Il est aussi considéré comme un germe hospitalier très important et reste le plus fréquemment isolé des matériels de prélèvements (Kayser et *al.*, 2008)

I.5. Caractères bactériologiques et immunologiques

I.5.1. Caractères morphologiques et cultureux

Les *Escherichia coli* sont des bacilles à Gram négatif, soit mobiles soit immobiles, parfois capsulées (figure 1) (Fauchère , 2002).

Sa taille (1-1,5 x 2-6 µm) et sa forme peuvent varier, et de nombreuses souches possédant des flagelles péritriches sont mobiles (Gross, 1991).

E. coli est aérobie facultatif 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, allant de 4,4 à 9 avec un pH optimum de 7,5 (Tap, 2004). Elle se développe très vite dans des conditions optimales, la population peut doubler toutes les 20 min (Cottinet , 2013).

E. coli comme toutes les Enterobacteriaceae ne présente pas, à l'état normal, d'exigences particulières pour sa culture. Son Isolement et ses repiquages ultérieurs peuvent donc être réalisés sur des milieux ordinaires comme la gélose nutritive Tryptocaseïne Soja. Des souches déficientes peuvent nécessiter un milieu enrichi avec 5 % de sang, voire même une incubation en microaérobiose (5 % CO₂). Des milieux sélectifs comme les géloses Drigalski et Mac Conkey sont également utilisés pour son isolement à partir de prélèvements polymicrobiens. Ces géloses facilitent le repérage des colonies d' *E. coli* en permettant de mettre en évidence leur faculté à utiliser le lactose (colonies jaunes sur Drigalski ou colonies rouges entourées d'un halo opaque dû à la précipitation de sels biliaires sur Mac Conkey). Des milieux gélosés permettent également de réaliser simultanément la numération et l'identification directe d' *E. coli* (Freney et al., 2007).

Il serait possible de suivre la dynamique de population des phénotypes en identifiant les morphologies. En pratique, distinguer les morphologies n'est pas évident et donc pas très précis (Cottinet , 2013).

Cette bactérie pourra être recherchée dans des prélèvements variés (urines, sang, liquide céphalo-rachidien, selles, suppuration, liquides d'épanchements...etc.), qui seront choisis en fonction des signes cliniques (Freney et al. , 2007).

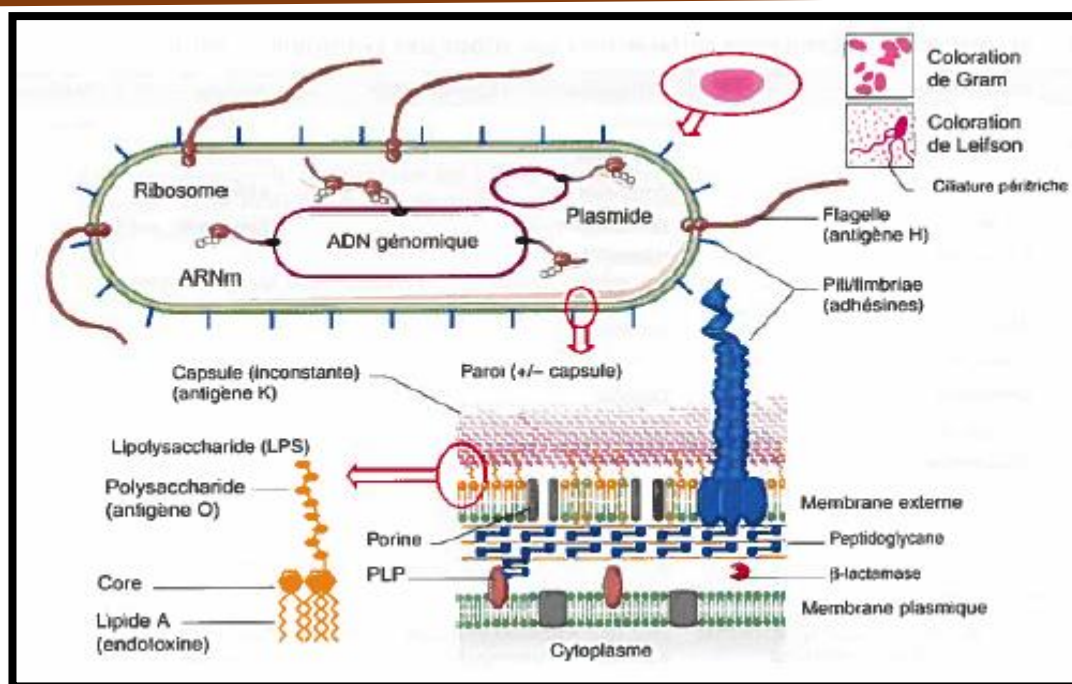


Figure 1 : Structure et aspect microscopique des Entérobacteriaceae

(Denis et al. , 2016)

I.5.2. Caractères biochimiques

L'étude biochimique permet le diagnostic d'espèce, voire du biotype (Flandrois, 1997). Les principaux caractères positifs sont l'indole, l'ONPG et le mannitol (tableau 1) (Denis et al., 2016)

En ce qui concerne la fermentation des sucres, les *E. coli* synthétisent des gaz et de l'acide en présence du glucose, maltose, mannitol, xylose, glycérol, rhamnose, sorbitol ou d'arabinose, mais pas en présence de dextrine, d'amidon ou d'inositol (Gross, 1991).

E. coli présente une réaction négative à l'oxydase et peut croître en présence des sels biliaires. Elle est normalement capable de fermenter le lactose avec production d'acide et aldéhyde en 48 heures à température de 36 ± 2 C° (Guarini et Vanhams, 2016).

Quelques caractères sont parfois aberrants : 4% de souches sont non indologènes. Des caractères peuvent être codés par des plasmides telle la production d'H₂S. Sur milieu de MacConkey-sorbitol, les souches d'*E. coli* sont sorbitol positif, à l'exception d'une grande partie des ECEH de sérotype 0157 :H7 (Denis et al., 2016).

Plusieurs galeries API peuvent être utilisées pour l'identification des entérobactéries dont la galerie API 20 E. celle-ci est un système standardisé, conçu dans les années 1970 permettant d'identifier aujourd'hui 21 d'entérobactéries, répartis en 70 espèces, sous-espèces ou biotypes. La galerie est composée de 20 microtubes (surmontés de cupules) des substrats déshydratés, qui permettent de réaliser 21 tests biochimiques du métabolisme respiratoire, glucidique et protéique. (Delarras, 2007)

L'expression du gène lacZ, qui code pour l'enzyme β -galactosidase, peut être révélée en introduisant un substrat chromogénique dans le milieu. L'hydrolyse de ce substrat par la β -galactosidase libère un composé coloré (Cottinet, 2013). Pour les coliformes, le critère présomptif est la présence de l'enzyme β -galactosidase. Le critère distinctif de l'*E. Coli* est la présence spécifique de l'enzyme β -glucuronidase en plus de la β -galactosidase (Guarini et Vanhams, 2016).

La lecture repose sur la couleur des colonies. Si la colonie est pigmentée de bleu, il s'agit *Escherichia coli*, si elle est rose, il s'agit d'un autre coliforme. (Guarini et Vanhams, 2016). Cette identification présomptive n'est valide que si elle s'accompagne d'un examen direct et d'une recherche positive de la production d'indole. (Denis et al., 2016)

Tableau 1 : Caractères différentiels des genres de la tribu des Escherichiae (Denis et al., 2016)

	Escherichia coli	Shigella	Salmonella	Citrobacter	Edwardsiella	Kluyvera spp.	Moellerella	Lederda	Leminorella	yekenella
Mobilité	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+
Indole	+	D	-	d	+	+	d	+	-	-
H ₂ S Hajna	-	-	+	d	+	-	-	-	+	-
Citrate Simmons	-	-	+	d	-	+	d	-	d	+
ONPG	+	D	D	+	-	+	+	+	-	+
LDC	D	-	+	-	+	+	-	-	-	+
ODC	D	D	D	d	+	+	-	-	-	+
ADH	-	-	D	-	-	-	-	-	-	-
Lactose	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
L-arabinose	D	D	D	+	-	+	-	+	+	+
Sensibilité à la colistine	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-

Toutes les souches sont TDA-, VP-, urée -, sauf plasmide métabolique

D : différent selon les sous souche de salmonella \ d : différent selon les souches

I.5.3. Caractères antigéniques

Les antigènes de surfaces, O, H et K, éléments de la structure des *Escherichia coli*, sont à la base de la séparation en types sérologiques qui présentent un intérêt épidémiologique (figure 1) (Flandrois, 1997).

- Antigène O ou somatique (endotoxine) : Correspondent au lipo-polysaccharide de surface et leur spécificité dépend des polysaccharides (Freney et al., 2007). Il existe environ 160 antigènes O différents. Au moyen d'immunsérums spécifiques de ces antigènes O, il est possible de classer sérologiquement les *E. coli* (Fauchère, 2002).
- Antigène K ou capsulaire : De nature polysaccharidique, constitue soit une enveloppe d'importance variable, soit une véritable capsule (Freney et al., 2007). Environ 70 antigènes d'enveloppe différents sont reconnus. La majorité des souches responsables de méningites néonatales possèdent l'antigène K1 (Fauchère, 2002).
- Antigène H ou flagellaire : Correspond aux protéines flagellaires (Freney et al., 2007). On en connaît 52 types (Fauchère, 2002). L'identification de ces antigènes est souvent délicate

en raison de leur fragilité de la faible mobilité de la pluparts des souches et leur isolement (Freney et *al.* , 2007).

A ces structures superficielles doivent être rattachés des antigènes protéiques ou antigènes F qui se présentent fréquemment sous forme de fimbriae et confère aux bactéries des propriétés d'adhésion, première étape du pouvoir pathogène. Les antigènes F1 sont associés au pili communs, ils se présentent sous forme de fins filaments rigides répartis sur toute la surface de la bactérie. (Freney et *al.* , 2007). Des protéines de la membrane externe peuvent augmenter la résistance à la bactéricidie due au sérum, ce sont des systèmes d'appoint dans le déterminisme du pouvoir pathogène (Flandrois, 1997).

I.6. Substances biologiquement actives

Les colibacilles peuvent produire diverses substances biologiquement actives comme des entérotoxines, des hémolysines, des enzymes capables de détruire certains antibiotiques et des bactériocines (dénommées colicines), substances à action antibiotique qui détruisent spécifiquement d'autres bactéries, et enfin des sidérophores. Les sidérophores bactériens favorisent la captation du fer, après formation d'un complexe fer-sidérophore, celui-ci est réalisé grâce à un récepteur spécifique situé sur la membrane externe de la bactérie. À côté de l'entérobactine, sidérophore produites par tous les *Escherichia coli*, l'aérobactine est liée au pouvoir pathogène. Elle est codée par un plasmide producteur également de colicine. Le lipopolysaccharide ou endotoxine, participe aux dégâts en étant responsable d'une augmentation de production de TNF α macrophagique à l'origine du choc septique. Il joue un rôle dans lutte contre les défenses non spécifiques. Certains lipopolysaccharides pourraient à eux-seuls assurer l'invasivité de certaines souches qui, chez d'autres, est due à la présence d'une capsule (antigène K1). Ce polysaccharide capsulaire est chargé négativement et s'oppose aux interactions avec les cellules phagocytaires et à l'activation du complément par la voie alterne (Flandrois, 1997)

I.7. Pouvoir pathogène et souches d'*E. coli*

Les *Escherichia coli* peuvent être de banals commensaux ou indiscutables agents pathogènes. Ils peuvent donner lieu à divers types d'infection (Gross, 1991).

I.7.1. Infections extra-intestinales

Les infections extra-intestinales apparaissent quand les colibacilles de la flore propre du macroorganisme arrivent là où ils ne devraient pas être et qu'ils y trouvent des conditions favorisant leur multiplication (Kayser et *al.*, 2008).

I.7.1.1. Infection des voies urinaires

La majorité des infections urinaires est due à *E. coli* (Fauchère , 2002). Soit elle se manifeste uniquement au niveau des voies urinaires basses (urétrite, cystite, urétrocystite), soit elle touche les bassins et les reins (pyélonéphrite) (Kayser et *al.*, 2008). L'anatomie du bas appareil urinaire féminin permet facilement aux souches de *E. coli* de la flore fécale d'atteindre la vessie par voie ascendante. De plus, certaines souches d'*E. coli* sont dotées à leur surface de structures, les adhésines, qui leur permettent d'adhérer spécifiquement aux épithéliums de l'appareil urinaire (Fauchère , 2002). Les infections des voies urinaires sont souvent causées par la variété pathogène UPEC (*E. coli* uropathogène). (Kayser et *al.*, 2008)

I.7.1.2. Infections méningées

Les méningites néonatales sont souvent graves provoquées par 80 % des souches possèdent l'antigène capsulaire K1 (Fauchère , 2002).

I.7.1.3. Septicémie

Consécutive à une infection localisée peuvent évoluer vers un choc septique gravissime dû à l'action du lipopolysaccharide (LPS) ou endotoxine (Fauchère , 2002). Elle est fréquemment causée par des souches de la variété pathogène SEPEC (ont la propriété de résistance sérique) (Kayser et *al.*, 2008)

I.7.2. Infections intestinales

Les diarrhées infectieuses à *E. coli* peuvent revêtir des formes différentes en fonction des facteurs de virulence codés par les gènes hébergés par ces souches (Fauchère , 2002). Les souches responsables de diarrhées appartiennent à des sérotypes particuliers et possèdent des facteurs de virulence spécifiques de support plasmidique, chromosomique (Denis et *al.* , 2016).

- *E. coli* entéropathogène (EPEC) : responsables de diarrhées aqueuses chez l'enfant. (Denis et *al.* , 2016) Elles sont responsables de déshydratations aiguës, autrefois désignées par le terme de toxicose (Fauchère , 2002). Les EPEC se fixent aux cellules épithéliales de l'intestin grêle par le facteur d'adhésion des EPEC (EAF, *EPEC-adhesion factor*) et injectent dans l'entérocytes des molécules toxiques (Kayser et *al.*, 2008).

Les EPEC colonisent la muqueuse intestinale et adhèrent très fortement aux entérocytes. Ils produisent des lésions d'attachement et d'effacement, caractérisées par la destruction localisée des microvillosités de la bordure en brosse et induisent des altérations du cytosquelette des cellules épithéliales (figure 2) (Fauchère , 2002).

- *E. coli* entérotoxigènes (ETEC) : Ces souches sont responsables de syndromes cholériformes qui touchent principalement les enfants des pays en voie de développement et les voyageurs. (Denis et al. , 2016)
Sa pathogénicité repose sur les entérotoxines LT, labiles à la chaleur (inactivation à 60 °C. 30 min), et sur les toxines STa et STb, plus stables à la chaleur (inactivation seulement à des températures >100 °C). Les souches produisent une ou plusieurs toxines. LT est une toxine très proche de la toxine cholérique. Elle stimule l'activité de l'adénylate cyclase. STa stimule l'activité de la guanylate cyclase. Du fait de l'augmentation des taux d'AMPC et de GMPC, s'installent une inhibition de l'absorption de Na⁺ et une augmentation de la sécrétion de Cl⁻ par les entérocytes. La pathogénicité des ETEC repose d'autre part sur des fimbriae spécifiques, appelés facteurs de colonisation, grâce auxquels les bactéries s'amarrent aux entérocytes de l'intestin grêle. Cela empêche leur élimination rapide par le péristaltisme (figure 2). (Kayser et al., 2008)
- *E. coli* entéro-invasifs (EIEC) : Ces souches sont responsables de syndromes dysentériques. Elles peuvent être confondues avec des *Shigella* avec lesquelles elles ont des antigènes en commun et en raison de caractères biochimiques souvent atypiques (absence de fermentation du lactose, de production de gaz et de mobilité) (Fauchère , 2002). Ils pénètrent dans la muqueuse colique et provoquent des abcédassions (figure2). (Kayser et al., 2008)
- *E. coli* entéro-hémorragique (EHEC) : responsables d'épidémies de diarrhées sanglantes d'origine alimentaire pouvant se compliquer de syndrome hémolytique et urémique (SHU) (Denis et al. , 2016). Le pouvoir pathogène de ces souches est dû à la production de grandes quantités de vérotoxines VT 1 et/ou VT 2 ou toxines « shigella-like ». Passant dans la circulation, ces toxines provoquent une thrombose de la microcirculation intestinale et rénale (figure 2) (Fauchère , 2002).
- *E. coli* entéroaggrégatifs (EAggEC) : Ces souches sont responsables de diarrhées persistantes (> 14 jours) chez des enfants dans les pays sous-développés. (Fauchère , 2002) Dues à une adhésion typique en «briques empilées» liées à des facteurs entéroaggrégants (aggR, aggA) (figure 2) (Denis et al. , 2016) Cette adhésion est à l'origine de nécroses du pôle apical des villosités avec œdème et hémorragies dans la sous-muqueuse (Fauchère , 2002).

À noter la possibilité d'évolution de certains pathovars en pathovars «mosaïques» comme l'a montré l'épidémie allemande de 2011 à *E. coli* O104 :H4, ECEH ayant acquis le gène aggR (entéroaggrégatif) (Denis et al. , 2016).

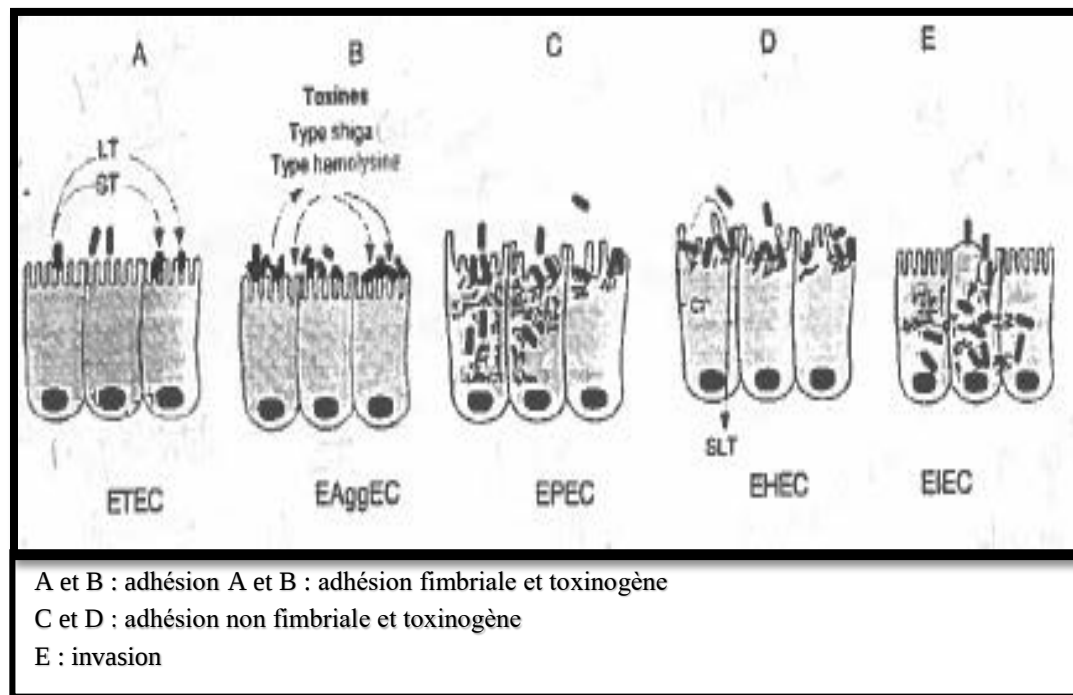


Figure 2 : Modèle physiopathologique des infections causées par 5 pathovars connus d'*E. coli* responsables d'infections intestinales (Fauchère , 2002)

I.8. Sensibilité aux antibiotiques

Les souches d'*E. coli* sont habituellement sensibles aux aminosides, aux fluoroquinolones, aux céphalosporines de troisième génération et à la fosfomycine. Cependant la résistance aux amino et aux carboxi-pénicillines par production de pénicillinase (TEM ou SHV) dépasse 40 % des souches. Une partie de ces souches résistent à l'association amoxicilline-acide clavulanique en raison, soit d'une forte production de pénicillinase, soit de la production d'enzymes de type TRI (TEM résistant aux inhibiteurs) (Fauchère , 2002).

II.1. Introduction

Escherichia coli est un hôte commun de la microflore commensale intestinale de la volaille. Son établissement dans le tractus digestif s'effectue durant les premières heures ou journées qui suivent l'éclosion. *E. coli* constitue alors, tout au long de la vie de l'hôte, l'espèce bactérienne la plus dominante de la flore aérobie intestinale (Joly et Reynaud, 2003).

II.2. Historique

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

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.

II.3. Définition

La colibacillose se définit comme étant une infection localisée ou généralisée causée entièrement ou partiellement par les souches APEC (Avian Pathogenic *Escherichia coli*), et engendre des manifestations cliniques et des lésions qui peuvent être variables suivant l'âge du poulet (Stordeur et Mainil, 2002 ; Barnes *et al.*, 2003).

II.4. Caractères microbiologiques généraux de l'agent causal

Les *Escherichia coli* sont des hôtes commensaux du tractus digestif de la volaille, elles possèdent les caractères classiques des Enterobacteriaceae (Richard, 1989).

II.4.1. Facteurs de virulence

II.4.1.1. Les adhésines

Ce sont des structures qui permettent aux bactéries l'adhérence aux cellules de l'hôte. Ces structures sont : les fimbriae de type 1 et les fimbriae de type P (Stordeur *et al.*, 2002). Les fimbriae de type 1 sont impliquées dans l'adhésion aux cellules pharyngées et trachéales des poulets, tandis que les fimbriae de type P sont impliquées dans la colonisation des organes plus profonds (Dolois *et al.*, 1994 ; Dolois *et al.*, 1995 ; Marc *et al.*, 1998).

II.4.1.2.L'aérobactine

C'est un système de captation du fer présent chez les souches hautement pathogènes. Il leur procure l'aptitude de se multiplier dans un contexte de carence en fer (Stordeur et *al.*, 2002).

Ce système permet également aux bactéries de pouvoir se multiplier dans le sang ou dans des organes autres que l'intestin (Williams, 1979 ; Vidotto et *al.*, 1991 ; Wooley et *al.*, 2000). Cette captation de fer est réalisée par la sécrétion de petites molécules ayant l'affinité pour le fer. Ces molécules sont appelées : Sidérophores.

II.4.1.3.Les toxines

En plus de l'endotoxine colibacillaire, les souches *E. coli* produisent des exotoxines pouvant être impliquées dans le processus pathogénique. Parmi ces toxines on note :

Une toxine thermostable de type Sta isolée du poulet (Sekizaki et *al.*, 1984), une entérotoxine thermolabile identique à la toxine LT de la souche d'origine humaine H₁₀₄O₇ (Tsuji et *al.*, 1988) et une vérotoxine active seulement sur les cellules Vera (Embry et *al.*, 1992). L'ensemble leur donne la capacité de produire des effets cytotoxiques.

II.4.1.4.L'hémagglutinine

Les souches possédant une hémagglutinine sont reconnues plus virulentes et peuvent contribuer au développement des lésions dans les sacs aériens (Dozois et *al.*, 2000).

II.4.1.5.Résistance à l'effet bactéricide du sérum

La résistance à l'effet bactéricide du complément dans le sérum est déterminée par la présence des différentes structures bactériennes comme : la capsule, le lipopolysaccharide, les protéines de la membrane externe. Ces structures sont plus fréquemment présentes chez les souches isolées de lésions de septicémie (Ellis et *al.*, 1988).

II.4.1.6.La colicine

Substance bactéricide produite par les colibacilles permettant à ces derniers de tuer les bactéries voisines, créant ainsi une niche écologique favorable à leur développement (Penelope et *al.*, 2003).

II.4.2. Rôles des facteurs de virulence dans la pathogénie

Ces facteurs de virulence permettent aux *E.coli* de franchir les étapes successives d'invasion de l'hôte et d'intervenir dans la pathogénie :

- L'adhésion se fait par l'intermédiaire des fimbriae de type 1 qui interviennent dans la première étape de colonisation de l'appareil respiratoire.

- Le système d'aérobactine permettrait la multiplication dans l'organisme.
- La résistance aux défenses immunitaires de l'hôte serait assurée par la résistance au pouvoir bactéricide du sérum dans lequel sont impliqués les antigènes de surface.

II.5. Épidémiologie

II.5.1.Descriptive

II.5.1.1.Espèces affectées et répartition géographique

Toutes les espèces aviaires sont sensibles à *E. coli*. C'est une infection extrêmement fréquente et de répartition mondiale (Guérin *et al.*, 2008).

II.5.1.2.Les facteurs favorisants et prédisposants

II.5.1.2.1.Facteurs prédisposants

On dénombre plusieurs facteurs qui prédisposent la volaille à cette maladie, à savoir :

II.5.1.2.1.1.L'espèce

Toutes les espèces aviaires sont sensibles à *E.coli* (Guérin et Boissieu, 2008)

II.5.1.2.1.2.L'âge

Elle s'observe à tout âge, plus fréquemment chez les jeunes sujets entre 6 et 10 semaines (Goren, 1998).

II.5.1.2.2.Facteurs favorisants

II.5.1.2.2.1.Agents biologiques

Chez les oiseaux plus âgés, la colisepticémie est souvent secondaire à des infections à tropisme respiratoire comme certains virus tels que la bronchite infectieuse ou le virus de la Newcastle, ou des mycoplasmes (Charleston *et al.*, 1998). Certaines affections débilitantes intercurrentes sont largement prédisposantes comme la coccidiose, les helminthoses, l'histomonose (Guérin *et al.*, 2011).

II.5.1.2.2.2.Agents non biologiques

- **Le stress**

Certains facteurs de stress peuvent induire la colibacillose. La surcharge dans un bâtiment, le manque de nourriture ou un déséquilibre alimentaire, les conditions d'élevages dans le bâtiment jouent un rôle primordial face à la survenue du syndrome de la colibacillose (Nakamura *et al.*, 1987).

- **L'ammoniac NH₃**

C'est un gaz présent dans l'ambiance des poulaillers. Il est irritant et après inhalation, ce dernier peut provoquer la paralysie de l'escalator muco-ciliaire entraînant de forts problèmes respiratoires.

- **Température**

Aussi des changements brusques de températures peuvent participer à l'apparition de la maladie.

II.5.1.3.Importance économique

La colibacillose à l'heure actuelle représente l'une des plus importantes causes de pertes économiques aussi bien au secteur avicole qu'en industrie de volailles. Elle entraîne des retards de croissance, des mortalités en élevage, une baisse des performances ainsi que les frais d'antibiothérapie. Ainsi, elle représente le motif numéro 1 de saisie à l'abattoir (Elfadil *et al.*, 1996 ; Stordeur *et al.*, 2001).

II.5.1.4.Importance sanitaire et impact sur la santé publique

La plupart des APEC isolés de la volaille sont pathogènes seulement pour les oiseaux, et représentent un faible risque pour les humains et les autres animaux. Cependant, les poulets sont susceptibles d'être colonisés par *E. coli* O₁₅₇H₇. Ces derniers produisent une shigatoxine provoquant une entérite hémorragique chez les humains, cela constitue un risque accru de transfert de la maladie à l'homme (Barnes *et al.*, 2003 ; Stordeur *et al.*, 2001).

II.5.2. Analytique

II.5.2.1.Réservoirs

Le réservoir le plus important des *E. coli* aviaires est le tractus digestif de l'animal, dont 10 à 15% de la population colibacillaire appartiennent à des sérotypes potentiellement pathogènes (Gross, 1994 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).

II.5.2.2.Sources d'infection

Les *E. coli* qui sont présents naturellement dans le tractus digestif de la volaille représentent la source latente de l'infection. Quand la résistance du sujet est affaiblie, les souches pathogènes ou non peuvent se développer et se multiplier en provoquant la maladie (Guérin *et al.*, 2008).

II.5.2.3.Sources de contaminations

La litière sale est la plus importante source de contamination des œufs lors de la ponte. La poussière aussi, on retrouve jusqu'à 10⁶ colibacilles/g de poussière d'élevage et d'éclosions (Oyetunde, 1978 ; Gross, 1994 ; Guérin *et al.*, 2011). L'alimentation, l'eau de boisson souillée par les fientes qui est un

véritable bouillon de culture représentent une source de contamination (Stordeur *et al.*, 2001 ; Barnes *et al.*, 2003 ; Guérin *et al.*, 2008).

II.5.2.4. Voies d'entrée et modes de transmission

La principale voie d'entrée est le tractus respiratoire supérieur (voie aérienne) (Stordeur *et al.*, 2001). La contamination se fait alors à partir des particules de plumes et de la poussière des litières (Oyetunde, 1978). L'entrée des bactéries peut aussi avoir lieu depuis le tractus digestif (Gross, 1994 ; Dho Moulin et Fairbrother, 1999), tandis que la voie d'entrée pour les œufs se fait via la cuticule au moment de son séchage sur une litière sale (Guérin *et al.*, 2011).

La transmission verticale directe par les œufs lors d'infection du tractus génital est possible mais rare (Guérin *et al.*, 2011). Le plus souvent, l'infection se transmet à l'œuf horizontalement par les coquilles d'œufs souillées de fèces retrouvés sur une litière sale. À l'éclosion, les bactéries emprisonnées lors du séchage de la cuticule sont alors restituées sous forme d'aérosol. Cette transmission est responsable d'un taux important de mortalité chez le jeune poussin (Lecoanet, 1992 ; Gross, 1994 ; Dho Moulin et Fairbrother, 1999 ; Jordan et Patisson, 1996).

II.6. 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 Patisson, 1996).

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).

II.7. Les infections à *E. coli*

Il existe plusieurs formes de colibacillose : des formes localisées, des formes généralisées (septicémiques) et des formes chroniques (Barnes *et al.*, 2003). Nous ne traiterons dans ce présent mémoire que les formes les plus rencontrées chez le poulet de chair.

II.7.1.Omphalite / inflammation du sac vitellin

Les omphalites colibacillaires correspondent à des erreurs d'élevage (hygiène en amont de l'éclosion et en éclosoir « hygrométrie et température ») retardant la cicatrisation de l'ombilic qui constituent avec cette forme de maladie probablement la cause la plus importante de mortalité chez les poussins âgés de moins d'une semaine (Villate, 2001).

La contamination de l'œuf, plus précisément de la membrane vitelline, se fait essentiellement lors de la ponte. 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 et sont plus chauds et leur surface est mouillée.

II.7.1.1.Aspect clinique et lésionnel

On note une mortalité variable, avec :

- **Ombilic** : œdémateux et enflammé avec présence de croutes.
- **Sac vitellin** : mal résorbé avec une paroi opacifiée et congestionnée un contenu jaune – brun au vert de consistance aqueuse à grumeleuse.

II.7.2.Colibacillose respiratoire

C'est une pathologie importante dans les élevages industriels de poulets de chair. Les pertes sont plus souvent d'ordre économique avec un taux de mortalité pouvant atteindre dans certains cas 30 à 50 % et un taux de morbidité pouvant dépasser les 50%, une réduction significative de la croissance des animaux, une augmentation du coefficient alimentaire et des saisies au niveau des abattoirs (Yogarathnam, 1995 ; Elfadil *et al.*, 1996). Elle 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).

La contamination se fait par voie respiratoire et est secondaire à une infection à mycoplasmes (*Mycoplasma gallisepticum*), à une virose à tropisme respiratoire (bronchite infectieuse) ou immunosuppressive (maladie de Gumboro), à un accident de vaccination ou à une concentration trop élevée en agents irritants dans l'air (poussière ou ammoniac) (Nakamura *et al.*, 1992 ; Gyles et Fairbrother, 2010).

II.7.2.1. Sur le plan clinique

- Les animaux malades sont indolents et anorexiques « chute importante de la consommation alimentaire »
- Ils présentent des signes respiratoires :
 - ✓ Bec ouvert, respiration accélérée et irrégulière.
 - ✓ Toux, éternuement, jetage.
 - ✓ Larmolement, sinusite.
 - ✓ Abattement accompagné d'hyper thermie (42 à 44c°).

II.7.2.2. Sur le plan lésionnel

Les organes les plus touchés sont les sacs aériens, le foie, le cœur et la cavité abdominale (péritonite).

- **Les sacs aériens** : Aérosacculite, les sacs aériens s'opacifient, s'épaississent et présentent un aspect congestif.
- **Le cœur** : Péricardite, le cœur prend un aspect opaque et œdémateux et se remplit d'un exsudat fibrineux.
- **Le foie et la rate** : Les lésions sont surtout localisées en périphérie, caractérisées par de la congestion, un épaississement du tissu et un dépôt de fibrine, l'organe prend alors l'aspect d'une crêpe (Gross, 1994).

II.7.3. Colisepticémie

La colisepticémie est due à l'invasion colibacillaire des jeunes oiseaux. Elle se traduit par des mortalités brutales (Guérin *et al.*, 2011).

Elle est caractérisée par la présence d' *E coli* dans le flux sanguin. La virulence de la souche et l'efficacité des défenses de l'hôte déterminent la durée, le degré et l'issue de la maladie ainsi que le type et la sévérité des lésions (Pourbakhsh *et al.*, 1997_a et 1997_b).

II.7.3.1. Sur le plan clinique et lésionnel

Mortalité et morbidité variables et subites après une période d'abattement et d'anorexie, sachant que les lésions de la forme aigue sont non exsudatives :

- **Foie** : hypertrophie, coloration intense avec quelques zones de dégénérescence, parfois verdâtres.
- **Rate** : hypertrophiée avec des points de nécrose.
- **Rein** : néphrite dépôt d'urate.

- **Intestin** : ampoule cloacale distendue par des gaz et des matières liquides blanchâtres (Guérin *et al.*, 2011).
- **Cœur** : péricardite associée souvent à une myocardite, sac péricardique trouble, l'épicaire est œdémateux et recouvert d'un exsudat de couleur claire.

II.7.4. Formes localisées

II.7.4.1. Dermatite nécrotique

Parfois appelée cellulite, c'est une maladie de surpeuplement et de mauvaise hygiène, issue d'un processus infectieux ou inflammatoire, entraînant un exsudat inflammatoire caséux et l'apparition de plaques de fibrine sous la peau située dans la partie inférieure de l'abdomen et sur les cuisses. Elle n'entraîne ni mortalité ni signes cliniques mais est responsables de pertes économiques substantielles, notamment à l'abattoir (carcasse saisie) (Guérin et Boissieu, 2008).

II.7.4.2. Le syndrome de la grosse tête

Appelée également « Swollen head disease », ou syndrome infectieux du gonflement de la tête (SIGT). Ce syndrome est caractérisé par une inflammation aiguë à subaiguë des cellules de la peau et du tissu sous cutané de la tête et des régions périorbitaires (White *et al.*, 1990).

II.7.5. Formes chroniques

II.7.5.1. La coligranulomatose

Appelée également « maladie de Hjarre », elle est retrouvée à l'âge adulte et associée à des mortalités sporadiques. C'est une affection du tube digestif peu fréquente, néanmoins le taux de mortalité avoisine les 75 % (Stordeur *et al.*, 2003).

II.7.5.2. Arthrites et synovites

Les *E. coli* ont été isolés à partir d'articulations de poulets, ils peuvent surinfecter des maladies primitives (arthrite à rétrovirus, synovite à *Mycoplasma synoviae*) ou être inoculés par des blessures ou traumatismes (Gross, 1991 ; Villate, 2001). Ces infections sont le plus souvent le témoin d'une colisepticémie, car d'une part ; les oiseaux semblent ne pas pouvoir éliminer complètement la maladie, permettant ainsi la localisation d'*E. coli* dans les articulations et les synoviales. (Barnes *et al.*, 2003 ; Huff *et al.*, 2000).

II.7.5.3. Panophtalmie

L'implication de l'œil est assez rare. Cependant, si ce dernier est infecté, la panophtalmie sera toujours sévère. La plupart des oiseaux meurent peu de temps après le début des lésions. C'est une infection qui se manifeste le plus souvent unilatéralement.

II.7.5.4. Méningite

C'est une forme assez rare, caractérisée par une affection des méninges qui peut être associée à une affection du cerveau (encéphalite) ou des ventricules.

II.7.5.5. Entérite

E. coli a été isolé chez des volailles lors d'entérites, mais les recherches ne sont pas suffisantes pour indiquer qu'il s'agit de l'étiologie. Les poulets atteints présentent une diarrhée, différents degrés de déshydratation et une dégradation rapide de l'état général (Pakpinyo *et al.*, 2002).

II.8. Diagnostic

II.8.1. Clinique et lésionnel

Le diagnostic de la colibacillose aviaire repose sur le tableau clinique qui est surtout établi selon la forme de colibacillose présente chez le sujet et la présence de lésions telles que l'aérosacculite, parfois accompagnée de périhépatite et péricardite. En effet les lésions qui apparaissent sont en fonction de l'âge des animaux et de leurs statuts immunitaires. La clinique et l'autopsie des animaux malades restent le moyen de suspicion avant de confirmer par les examens de laboratoire.

II.8.2. Diagnostic différentiel

Il faut cependant garder à l'esprit que ces lésions peuvent aussi être engendrées par d'autres agents pathogènes cités dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2 : Diagnostic différentiel de la colibacillose aviaire (Grosse, 1994 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999)

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

II.8.3.Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic de la colibacillose est essentiellement expérimental. L'identification définitive du germe en cause est basée sur l'analyse des caractéristiques de ce dernier. L'examen bactériologique n'est pas contraignant si ce n'est de prendre toutes les précautions nécessaires afin d'éviter les contaminations. Un isolement et une identification de l'agent responsable, sur la 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 (Stordeur et Mainil, 2002).

II.9. Pronostic

II.9.1.Médical

Variable en fonction de la forme et du type des lésions ayant atteint les sujets. Cela dépend de la virulence de la souche, de son tropisme, des moyens de défense de l'hôte et de son âge ainsi que l'issue de la maladie (Pourbakhsh *et al.*, 1997a et 1997b).

II.9.2.Économique

Vue l'augmentation de la prévalence de la colibacillose dans les élevages avicoles, elle est considérée comme étant l'infection qui représente l'une des plus importantes causes de pertes économiques en raison des mortalités qu'elle peut entraîner, et l'un des motifs de saisies les plus fréquents à l'abattoir, en plus de l'accroissement du nombre de souches développant une résistance à diverses molécules d'antibiotiques (Stordeur *et al.*, 2001 ; Robineau et Moalic, 2010).

II.10. Traitement

Le traitement de la colibacillose 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.

Des traitements alternatifs aux antibiotiques existent aussi, comme l'acide ascorbique qui contribue à intensifier l'activité des phagocytes (Stordeur et Mainil, 2001).

II.11. Prophylaxie et contrôle de la maladie

II.11.1.Sanitaire

Elle vise à lutter contre toutes les sources de contaminations environnementales, les vecteurs animés ou inanimés, les facteurs favorisant, ainsi qu'exiger un respect rigoureux des règles de biosécurité (Guérin *et al.*, 2011).

- L'hygiène du ramassage, de la collecte, du transport, de l'incubation et de l'éclosion des œufs est incontournable, ainsi que la désinfection très précoce des œufs est indispensable (Guérin *et al.*, 2011).
- Réduire les infections du tractus respiratoire en garantissant les 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 (Oyetunde *et al.*, 1978).
- La qualité de l'eau de boisson est primordiale. Il faut dès lors veiller à la changer très régulièrement pour qu'elle reste toujours propre et potable surtout dans les abreuvoirs (Jordan et Pattison, 1996).
- Combattre les rongeurs commensaux des volailles qui sont des réservoirs de colibacilles virtuellement pathogènes, les insectes parasites, coprophages, nécrophages qui sont des hôtes virtuels (Guérin *et al.*, 2011).
- Toutes les mesures préventives de séparation des animaux par classes d'âge et d'espèce, désinsectisation, dératisation, nettoyage, désinfection et vide sanitaire entre chaque lot sont aussi indispensables dans la prévention des colibacilles (Villate, 2001 ; Jordan et Pattison, 1996).

II.11.2.Médicale

Même si un certain nombre d'essais vaccinaux ont été effectués à l'aide de souches atténuées et ont été couronnés de succès avec des souches homologues, ils n'en restent pas moins inefficaces envers des infections avec des souches hétérologues. À l'heure actuelle, en dehors des vaccins expérimentaux, aucun vaccin efficace n'est disponible sur le marché vétérinaire. Une antibio-prévention réfléchie et adaptée peut être utile (Villate, 2001).

Sous chapitre 1 : Les antibiotiques**III.1.1 Introduction**

Les maladies infectieuses, notamment bactériennes restent au premier rang des causes de décès les plus fréquentes dans le monde. Parmi l'ensemble des médicaments utilisés dans le but de lutter contre ces maladies, les antibiotiques sont sans aucun doute les plus utilisés, ont fait progresser l'espérance de vie de plus de 10 ans (McDermott *et al.*, 1982).

III.1.2. Historique

En 1877, Pasteur et Joubert expérimentèrent et théorisaient la concurrence vitale entre microorganismes (aussi appelée antibiose), en l'occurrence entre bactéries en décrivant le principe actif de cet organisme vivant qui détruit la vie des autres pour protéger sa propre vie.

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 2^{ème} guerre mondiale (McDermott *et al.*, 1982).

III.1.3. Définition

Un antibiotique est une substance chimique d'origine naturelle ou synthétique ayant une action sélective et ciblée sur les micro-organismes : bactéries ou protozoaires, à l'exception notable des virus, sur lesquels ils sont sans effet.

Un grand nombre d'antibiotiques sont fabriqués par des micro-organismes : des champignons ou d'autres bactéries, ces dernières les produisent dans le but d'éliminer les bactéries concurrentes avec lesquelles ils sont en compétition dans leur biotope (Euzeby, 2005 ; Lavigne, 2007).

III.1.4. Caractéristiques**III.1.4.1. Toxicité sélective**

L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions antibiotique-bactéries d'une part et antibiotique-organisme d'autre part. Cependant, un antibiotique peut tuer ou inhiber le germe pathogène en le ciblant spécifiquement sans pour autant être nocif pour l'organisme ; c'est-à-dire en portant le moins préjudice

pour l'hôte. Par exemple : la pénicilline qui inhibe les enzymes responsables de la synthèse du peptidoglycane bactérien n'a que peu d'effets sur les cellules hôtes car elles ne possèdent pas de peptidoglycane (Alami *et al.*, 2005)

III.1.4.2. Spectre d'activité

Également appelé champ d'efficacité d'un antibiotique, il définit la liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs. Le spectre est propre à chaque antibiotique, et peut varier dans le temps à la suite de l'apparition de nouvelles résistances chez les différentes espèces bactériennes. L'antibiotique peut être :

- À spectre étroit : quand son activité se limite à une variété de microorganismes.
- À large spectre : quand il agit contre différents types d'agents pathogènes (Lavigne, 2007 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.1.4.3. Activité antibactérienne

C'est l'effet qu'exerce un antibiotique sur une bactérie ; allant de l'inhibition du développement et de la croissance bactérienne (bactériostase) jusqu'à la destruction totale de la bactérie (bactéricide) (Nauciel et Vildé, 2008).

Cette activité antibactérienne est caractérisée en pratique par :

- Posséder une cible bactérienne spécifique.
- Accéder et pénétrer jusqu' à sa cible bactérienne.
- Être capable de se lier à sa cible.
- Demeurer sous forme active.
- Interagir efficacement avec sa cible, en l'inactivant.

Si une de ces conditions est absente la souche sera résistante à l'antibiotique (Alami *et al.*, 2005 ; Chomarat, 2012).

III.1.4.3.1. Effet bactériostatique

C'est l'effet qui entraîne l'inhibition temporaire et réversible de la croissance et de la prolifération bactérienne par l'antibiotique (Helali, 2002 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.1.4.3.2. Effet bactéricide

C'est l'effet qui entraîne la mort des bactéries en réduisant leur nombre initial (Yeni, 2003 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.1.5. Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon plusieurs critères, parmi eux : l'origine, le mode d'action, le spectre d'activité, la nature ou la structure chimique (Auckenthaler, 1995).

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).

III.1.6. Mode d'action des principales familles d'antibiotiques

Le principe d'action des antibiotiques consiste à inhiber ou à bloquer sélectivement une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la survie ou à la multiplication des micro-organismes. Le mécanisme ciblé par l'antibiotique est le plus souvent spécifique des bactéries. Chaque famille d'antibiotique est dotée d'actions qui lui sont propres (Page *et al.*, 1999 ; Nauciel et Vildé ; 2008). On distingue quatre grands modes d'action d'antibiotiques (figure 3) :

- 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 (Alami *et al.*, 2005)

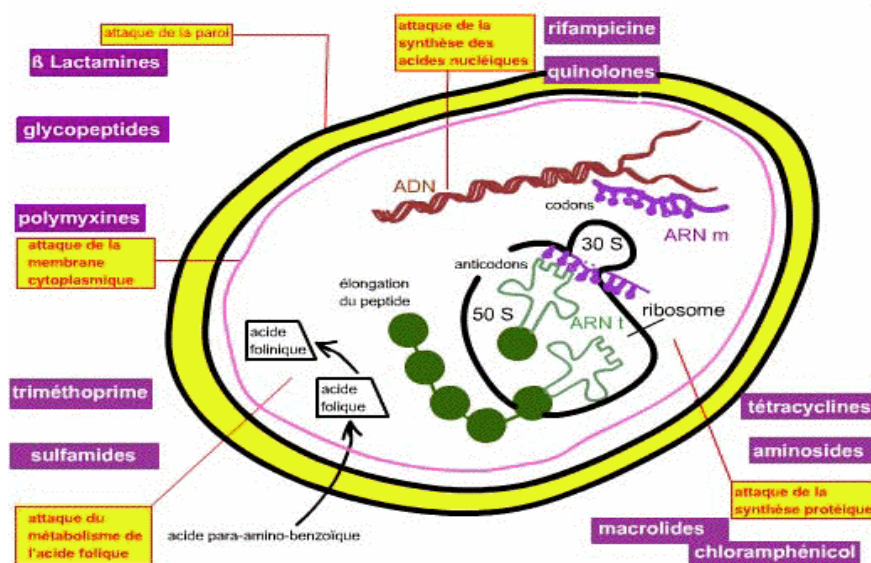


Figure 3 : Différents modes d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007)

III.1.6.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

Certaines bactéries sont protégées de l'environnement extérieur par une paroi qui contient en particulier une couche de peptidoglycane plus ou moins épaisse; un polymère spécifique comportant des acides aminés et des sucres. C'est ce peptidoglycane présent dans la paroi qui contribue à la solidité mécanique de la bactérie. Les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane bloquent les différentes étapes de cette synthèse, ayant ainsi un effet létal pour la bactérie (bactéricide) (Nauciel et Vildé ; 2008).

III.1.6.1.1. β -Lactamines

Elles ont en commun un noyau β -Lactame. Leur action sur la synthèse du peptidoglycane consiste en leur fixation suivie par l'inhibition des protéines liant la pénicilline (PLP) ; ce sont des protéines membranaires appartenant à la bactérie. L'activité enzymatique des PLP est inhibée par leur liaison avec les β -Lactamines aboutissant à la lyse bactérienne qui (Nauciel et Vildé, 2008).

III.1.6.1.2. Glycopeptides

Ces molécules se lient au dipeptide terminal D-ala-D-ala (précurseur du peptidoglycane) qui normalement est intégré dans le peptidoglycane. Le glycopeptide empêche cette intégration par blocage de la polymérisation du PG entraînant secondairement l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane et ainsi la mort de la bactérie (Alam *et al.*, 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008 ; Chomarat, 2012).

III.1.6.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

La synthèse des protéines est un processus essentiel des cellules vivantes. L'élément central de ce processus dans lequel l'ARN messenger est traduit en protéine est le ribosome, l'organe cellulaire qui est responsable de cette étape. Il existe un grand nombre de molécules antibiotiques qui sont capables de bloquer sélectivement la traduction des protéines chez les bactéries. De ce fait, approximativement la moitié des antibiotiques utilisés en thérapeutique ont pour cible le ribosome bactérien. La grande majorité de ces antibiotiques est bactériostatique, à l'exception des aminosides qui sont bactéricides (Page *et al.*, 1999 ; Nauciel et Vildé, 2008). Voir (figure 4)

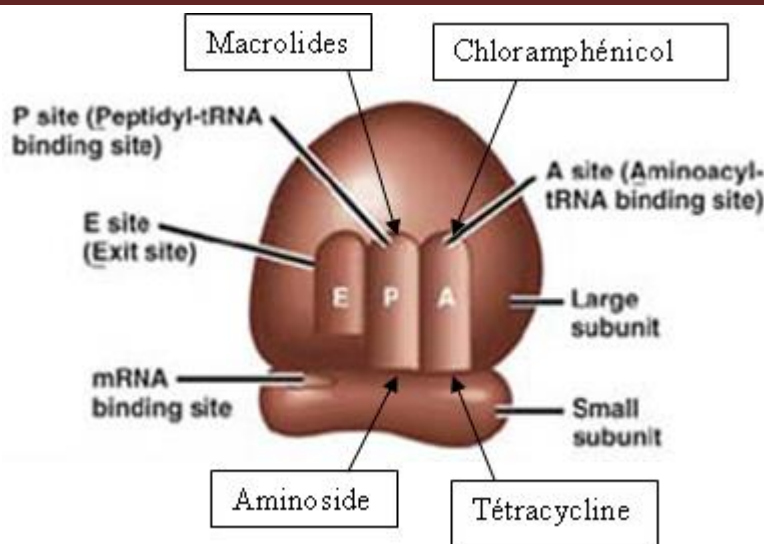


Figure 4 : Action des antibiotiques sur la synthèse protéique (Lavigne, 2007)

III.1.6.2.1. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome

III.1.6.2.1.1. Aminosides

Ce sont des antibiotiques ayant une activité bactéricide puissante, une structure commune, un spectre d'activité large, mais une diffusion tissulaire limitée, une toxicité importante et se distinguent par leur capacité à résister aux différentes enzymes pouvant les inactiver (Moulin et Coquerel, 2002 ; Chomarat, 2012).

Leur mode d'action consiste en leur fixation sur la sous-unité 30S ; à concentration subthérapeutique : ils provoquent des erreurs de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines, et à concentration thérapeutique : ils inhibent l'élongation de la chaîne peptidique en bloquant le complexe d'initiation (Lavigne, 2007).

III.1.6.2.1.2. Tétracyclines

Inhibent la synthèse protéique en se fixant de façon réversible à la sous-unité 30S des ribosomes et en empêchant l'attachement des Amino-acyl-ARNt au site A du ribosome, et en inhibant la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique (Lavigne, 2007).

III.1.6.2.2. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome**III.1.6.2.2.1. Chloramphénicol**

Agissent en se fixant à la sous-unité 50S du ribosome (au site A) empêchant ainsi l'attachement des Amino-acyl-ARNt au site A du ribosome, Ils inhibent également la polymérase (Lavigne, 2007 ; Neal, 2007).

III.1.6.2.2.2. Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)

Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse des protéines, ils agissent au niveau de la sous-unité 50S du ribosome. Ils inhibent la croissance de la chaîne polypeptidique en formation par leur liaison de façon réversible à la sous-unité 50S des ribosomes (site P) et en inhibant la translocation et la transpeptidation de la chaîne peptidique en croissance (Lavigne, 2007 ; Neal, 2007).

III.1.6.2.3. Antibiotiques inhibant le facteur d'élongation G

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

III.1.6.3. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

La synthèse des acides nucléiques, ADN et ARN est absolument vitale pour les cellules bactériennes, sans elle, la division cellulaire et la fabrication des protéines est impossible. Un certain nombre de composés d'antibiotiques peuvent bloquer de manière directe ou indirecte ces voies de biosynthèse des acides nucléiques.

III.1.6.3.1. Sulfamides et triméthoprine

Ils inhibent la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la di-hydroptéroate synthétase (DHPS) et par conséquent provoquer son inhibition. Le triméthoprine est beaucoup plus utilisé en association avec un sulfamide, en agissant à deux niveaux différents de la synthèse des folates, ce qui leur assurent un effet synergique (Nauciel et Vildé, 2008).

III.1.6.3.2. Quinolones

Ce sont des bactéricides, leur mode d'action consiste en l'inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes impliqués dans cette synthèse : l'ADNgyrase et l'ADN topoisomérase IV. Les quinolones altèrent ainsi rapidement la répllication de l'ADN, induisant la mort de la bactérie (Tankovic et Duval, 1997 ; Neal, 2007).

III.1.6.3.3. Nitrofuranes et Nitro-imidazoles

Ils ont le même mode d'action, agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases), ceci en libérant des radicaux libres toxiques capables d'oxyder l'ADN bactérien et de le couper (Alami *et al.*, 2005 ; Neal, 2007 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.1.6.4. Antibiotiques agissant sur les membranes**III.1.6.4.1. Les Polymyxines**

L'antibiotique le plus utilisé est la colistine. Elle agit sur la membrane cellulaire des bactéries Gram négative en se fixant sur les phospholipides provoquant ainsi une perméabilité membranaire d'où rupture de la barrière osmotique. La bactérie se vide ainsi de ses composants cytoplasmiques vitaux et meurt (GarnachoMontero *et al.*, 2003 ; Alami *et al.*, 2005).

Sous Chapitre 2 : L'antibiorésistance

III.2.1. Introduction

Après plus de 50 ans d'utilisation massive des antibiotiques, nous arrivons maintenant à une période plus délicate, où les bactéries reprennent l'avantage en développant des stratégies de résistance (Alami *et al.*, 2005).

III.2.2. Historique

En 1940, avant même que la pénicilline n'ait été largement utilisée en thérapeutique, Abraham et Chain attirent l'attention sur le fait que *Bacterium coli* inactive la pénicilline G en produisant une enzyme dénommée la pénicillinase (Abraham et Chain, 1940). Dès 1945 Fleming s'inquiétait du mauvais. Ensuite, chaque fois qu'a été mise au point une nouvelle substance, les bactéries s'y sont adaptées plus ou moins vite.

III.2.3. Définition

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).

III.2.4. Les différents types de résistance

La résistance aux ATB peut être naturelle ou acquise :

III.2.4.1. La résistance naturelle

Elle représente une propriété intrinsèque, 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). Exemple : *Pseudomonas aeruginosa* n'est jamais sensible à l'ampicilline.

III.2.4.2. La résistance acquise

Résistance qui apparaît chez des bactéries jusqu'alors sensibles aux antibiotiques, échappant ainsi à son effet thérapeutique. 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 ; Lavigne, 2007 ; Courvalin, 2008).

III.2.5. Biochimie de la résistance

III.2.5.1. Résistance croisée

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

III.2.5.2. 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 *in fine* un large phénotype résistant de la bactérie hôte (Courvalin, 2008).

III.2.6. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

Pour échapper à l'action létale des antibiotiques, les bactéries sollicitent de très nombreux mécanismes biochimiques de résistance (naturelle ou acquise), associés à une grande ingéniosité génétique pour les acquérir et les diffuser. On peut classer les mécanismes de résistance aux antibiotiques en 4 groupes :

III.2.6. 1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Pour être actif l'antibiotique doit arriver intact à sa cible, lorsqu'il y'a modification de l'antibiotique par des enzymes soit par ajout de groupement acétyle, adéninyle ou phosphorique ceci aboutit à son inactivation ou à sa destruction (Abdennebi, 2006 ; Doucet, 2006). Les plus connues sont les β -lactamases, sont des enzymes capables de couper la liaison beta lactame, liaison essentielle à l'activité des pénicillines et des céphalosporines (Kezzal, 1993).

Il existe d'autres enzymes inactivant les aminosides, le chloramphénicol et les macrolides, comme les acétyl-transférases, les nucléotidyl-transférases, et les phospho-transférases. Le chloramphénicol peut être inactivé par une chloramphénicol-acétyl-transférase. Les gènes codant ces enzymes sont le plus souvent plasmidiques (Poyart, 2003).

III.2.6.2. 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). Voir (figure 5)

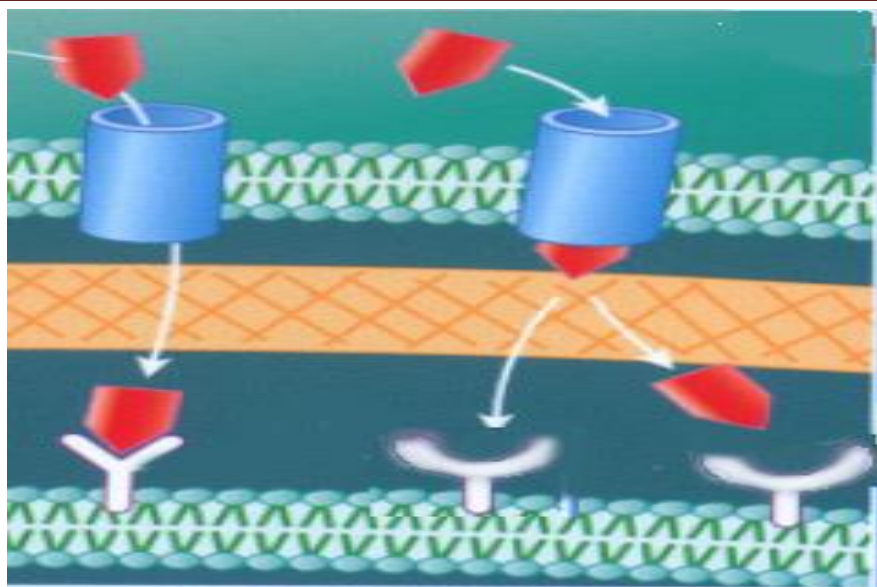


Figure 5 : Modification de la cible (Archambaud, 2009)

III.2.6. 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'antibiotique et 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).

III.2.6. 4. Excrétion par efflux

Autre que l'imperméabilité il existe un autre mécanisme qui explique la non accumulation à l'intérieur de la bactérie qui est l'efflux actif. L'antibiotique rentre dans la bactérie mais avant qu'il puisse se fixer sur sa cible il est pris en charge par les protéines membranaires et excrété vers l'extérieur de la bactérie, ce système fonctionne avec une protéine de la membrane externe qui forme le canal d'excrétion et une protéine péri-plasmique chargée d'assurer la liaison entre les précédentes (Gaudy et Buxeraud, 2005).

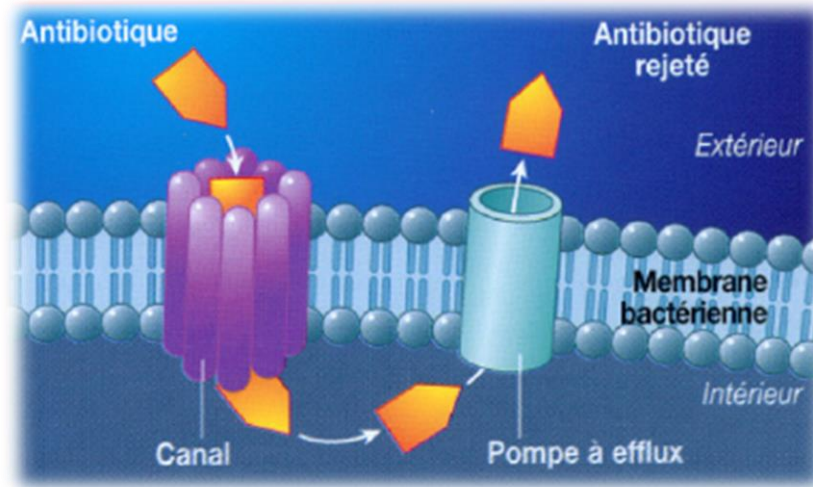


Figure 6 : Excrétion de l'antibiotique par efflux actif (Archambaud, 2009)

III.2.7. Mécanisme génétique de la résistance

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

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

III.2.8. Conséquence de la résistance aux antibiotiques

Cette résistance a des conséquences médiate et immédiates : L'échec thérapeutique est la conséquence pratique majeure, **diffusion de la résistance**, l'apparition de souches multi-résistantes et 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. Objectif

Le but de ce travail est d'évaluer la résistance microbienne aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli*, isolées à partir des poulets présentant des lésions de colibacillose, vis-à-vis de 12 molécules d'antibiotiques.

II. Lieu et période de l'étude

L'étude s'étend sur une période de 25 jours, du 25 novembre jusqu' au 19 décembre 2019. Les sujets sont récupérés à partir de plusieurs élevages de poulet de chair situés au niveau des Wilaya de Sétif, Mila et Annaba (Figure 7 et Tableau 3).



Figure 7 : Situation des élevages.

Tableau 3 : Origine des sujets.

Origine des sujets	Nombre des sujets
Sétif	5
Ain Arnet- Sétif	5
Djemila-Sétif	5
Bellaa-Sétif	5
Bir Hadada-Sétif	5
Tadjenant-Mila	10
EL Karma-Annaba	5

L'autopsie des sujets ainsi que les prélèvements des organes ont été effectués au niveau de la clinique de pathologie aviaire de l'ENSV.

III. Matériel et méthodes

III.1. Matériel

III.1.1. Echantillonnage et prélèvement

Les échantillons ont été prélevés au niveau de divers élevages de poulet de chair. Quarante sujets ont été retenus pour cette étude, présentant à l'examen nécropsique les lésions pathognomoniques de la colibacillose : aérosacculite, péricardite et/ou périhépatite et la congestion généralisée des carcasses. Les organes ont été prélevés aseptiquement et mis dans des pots stériles.

III.1.2. Milieux de culture

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

- BHIB (Brain Heart Infusion Broth) est un milieu d'enrichissement pour les *E. coli*, Institut Pasteur d'Algérie (Voir Annexe IV) ;
- Gélose nutritive, milieu convenant à la culture des bactéries ne présentant pas d'exigences particulières, Idéal Labo, Algérie (Voir Annexe IV) ;
- Mac Conkey, milieu d'isolement des bactéries lactose +, Bio Lab, Algérie (Voir Annexe I et IV) ;
- Milieu Urée-Indole, Institut Pasteur d'Algérie (Voir Annexe IV) ;
- Milieu TSI, Institut Pasteur d'Algérie (Voir Annexe IV) ;
- Milieu Mueller Hinton utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme, Institut Pasteur d'Algérie (Voir Annexe IV) ;
- Pour l'identification biochimique, nous utilisons la galerie API 20 E, BioMérieux, France.

III.1.3. Produits de laboratoire

Les produits de laboratoire et réactifs utilisés sont les suivants :

- Eau de javel, alcool 70°, eau physiologique 0,9% ;
- Huile de vaseline stérile, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Ampoules d'oxydase, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Réactif Kovac's, Réactif VP1, Réactif VP2, Réactif TDA (Tryptophane Désaminase), Institut Pasteur d'Algérie ;
- Ecouvillons ; Disques d'antibiotiques

III.2. Méthodes

III.2.1. Autopsie

Le but d'une autopsie est de permettre d'établir un diagnostic en se basant sur des lésions macroscopiques, ainsi que de prélever des échantillons pertinents pour des tests complémentaires qui permettront de confirmer ou d'infirmer un diagnostic. Plusieurs techniques d'autopsie aviaire existent.

Nous avons suivi au cours de notre travail le protocole préconisé par Majo et Dolz (2011) (Figure 8) et qui est résumé dans les étapes suivantes :

- a. Examen externe et préparation de l'animal ;
- b. Exploration de la cavité oropharyngée et de la trachée ;
- c. Dépouillement du cadavre ;
- d. Ouverture du cadavre et éviscération, observation de la cavité thoraco-abdominale ;
- e. Examen du tube digestif et de ses glandes annexes ;
- f. Examen du cœur et de l'appareil respiratoire ;
- g. Examen des appareils génital et urinaire ;
- h. Examen des organes hémato-lymphopoiétiques ;
- i. Examen du système nerveux ;
- j. Examen de l'appareil locomoteur.



Figure 8 : L'autopsie (Photo personnelle).

III.2.2. Bactériologie

Après avoir effectué les autopsies et avant les étapes bactériologiques, nous avons procédé à :

- Désinfection de la pailasse avec l'eau de javel ;
- Allumage du bec benzen pour travailler dans des conditions stériles ;

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

III.2.2.1. Isolement des *Escherichia coli*

La surface des organes a été flambée puis l'organe a été coupé stérilement en petits dés à l'aide d'une pince et de ciseaux stériles.

III.2.2.1.1. Enrichissement :

Le milieu d'enrichissement, le BHIB, a été ensemencé par l'introduction de petits dés d'organes à l'intérieur du tube puis incubé 18 à 24 h à 37°C.

III.2.2.1.2. Isolement :

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

III.2.2.2. Identification des *Escherichia coli* :

III.2.2.2.1. Identification morphologique :

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 (Figure 9).



Figure 9 : Observation des colonies (Photo personnelle).

III.2.2.2. Identification biochimique :

III.2.2.2.1. Test des trois sucres (TSI) :

Milieu utilisé pour la caractérisation biochimique des entérobactéries en particulier lors de l'analyse des produits alimentaires et lors du contrôle de la contamination des produits. Ce test permet de mettre en évidence l'utilisation du glucose, la production d'H₂S et du gaz par ces bactéries.

Technique

Un tube de milieu Triple Sugar Iron Agar a été ensemencé avec une colonie suspecte, prélevée dans une boîte de Pétri d'isolement primaire, il a été ensuite incubé en atmosphère aérobie entre 35 et 37 °C pendant 18 à 24 h.

Résultats

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 ₂ S	
Formation de bulles	→	production de gaz	

III.2.2.1.1.2. Test d'urée et indole :

Ce milieu permet de mettre en évidence les caractères suivants :

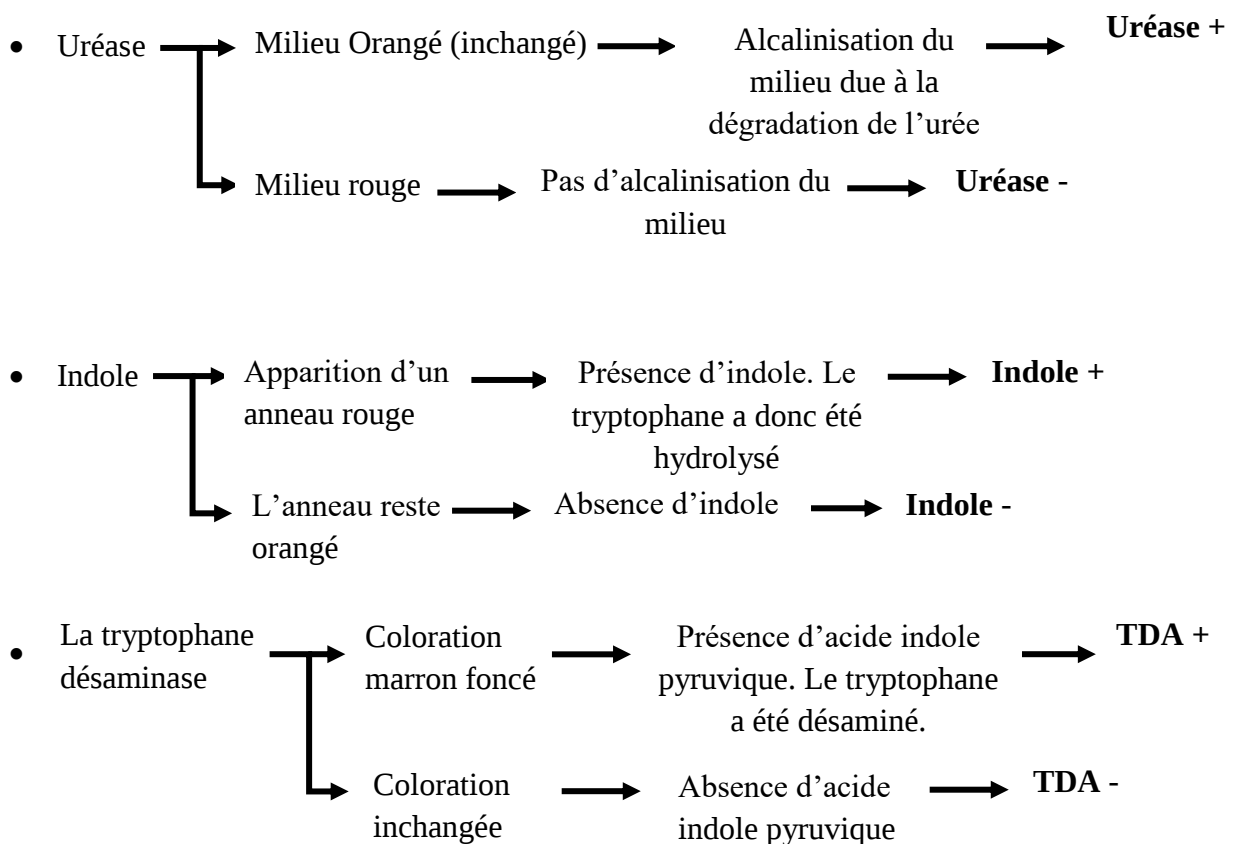
- Présence d'une uréase ;
- Présence d'une tryptophanase ;
- Présence d'une tryptophane désaminase (TDA).

Technique

Une colonie a été raclée à l'aide d'une anse de la surface du milieu TSI, et ensemencée dans le milieu urée tryptophane. Ensuite une incubation 24 heures à 37°.

Après avoir effectué la lecture, on a séparé le milieu urée indole en deux pour la recherche de l'indole et de la tryptophane désaminase. Au premier tube, on a ajouté 3 gouttes du réactif de Kovacs et on a fait la lecture. Au deuxième tube, on a rajouté 3 gouttes du chlorure de fer III en solution acide et on a lu le résultat.

Résultats



III.2.2.2.3. Identification biochimique par API 20 E :

➤ Objectif

La galerie API 20 E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

➤ 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 révélées par l'addition de réactifs.

➤ Technique**Préparation de la galerie**

On a réuni fond et couvercle d'une boîte d'incubation et on a réparti de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. La galerie a été déposée soigneusement dans la boîte d'incubation. Ensuite, on a inscrit la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

Préparation de l'inoculum

On a ouvert une ampoule de Suspension Medium et on a prélevé une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé pour réaliser une suspension bactérienne.

Inoculation de la galerie

- Les tubules et les cupules des tests ont été remplis;
- Pour les tests CIT, VP et GEL, on a rempli tube et cupule ;
- Pour les autres tests, on a rempli uniquement les tubes (et non pas les cupules).
- Pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S et URE, on a créé une anaérobiose en remplissant les cupules d'huile de paraffine (Voir Annexe IV figure II) ;
- Il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation qui pourraient fausser le résultat.
- Finalement, la boîte d'incubation a été refermée et incubée à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

➤ Lecture de la galerie

Après incubation, la lecture de la galerie a été faite en se référant au tableau de lecture (Voir Annexe II) après addition des réactifs suivants :

- Une goutte de réactif TDA au test TDA.
- Une goutte de réactif Kovacs au test indole.

- goutte de réactif VP1 et VP2, et attendre au minimum 10 mn, au test VP (Voir Annexe IV figure III).

➤ **Interprétation de la galerie**

L'identification a été 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^{ème} test, est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive. Alors l'identification est faite à l'aide de :

- Catalogue analytique, en recherchant le profil numérique dans la liste des profils.
- Logiciel d'identification API web™, en entrant manuellement le profil à 7 chiffre.

III.2.2.3 Antibiogramme

L'antibiogramme consiste à déterminer la sensibilité et la résistance aux antibiotiques d'une bactérie isolée dans un prélèvement, et supposée être à l'origine d'un processus infectieux. La sensibilité aux antibiotiques est déterminée par la méthode de l'antibiogramme standard ou la méthode de diffusion des disques sur milieu solide.

a. Principe

La méthode de diffusion, 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. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture.

b. Technique

➤ **Le milieu**

- Gélose Mueller Hinton (MH), coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm. (Voir Annexe IV)
- Les géloses sont séchées avant l'emploi.

➤ **Inoculum**

- A partir d'une culture pure de 18H sur milieu d'isolement, on a raclé à l'aide d'une anse de platine quelques colonies ;
- On a déchargé l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% ;

- La suspension bactérienne a été bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ;
- L'inoculum a été 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 a été fait dans les 15mn qui ont suivi la préparation de l'inoculum.

➤ **Ensemencement**

- On a trempé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- L'écouvillon a été ensuite essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- On a frotté l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;
- On a répété l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement est terminé en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (Figure 10) ;
- Dans le cas où l'on a ensemencé plusieurs boîtes de Pétri, l'écouvillon a été rechargé à chaque fois.



Figure 10 : Ensemencement sur milieu Muller-Hinton (Photo personnelle).

➤ **Application des disques d'antibiotiques**

- Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24mm (Tableau 5).
- Tester la liste des antibiotiques indiqués dans le tableau 4
- 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.

Tableau 4 : Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme

Famille	Antibiotiques testés	Charge du disque	Symbole
Bétalactamines	Amoxicilline/Ac clavulanique	20/10 µg	AUG
	Ampicilline	10 µg	AMP
Aminosides	Néomycine	30 µg	N
	Gentamicine	10 µg	CN
Sulfamides	Triméthoprim-sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	SXT
Polypeptides	Colistine	10 µg	CS
Furanes	Nitrofurane	300 µg	F
Phénicolés	Chloramphénicol	30 µg	C
Quinolones	Acide nalidixique	30 µg	NA
	Enrofloxacin	5 µg	ENR
Cyclines	Tétracycline	30 µg	TE

Tableau 5 : Application des disques d'antibiotique par boîte de Pétri

BOITES	DISQUES D'ANTIBIOTIQUES
1	STX CS NA TE C F
2	AUG AMP ENR CN N

➤ Incubation

- Elle a été faite pendant 18 heures à 35°C ;
- La durée d'incubation peut être prolongée dans certains cas : oxacilline, glycopeptides et aminosides.

c. Lecture

- On a mesuré, avec précision, les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée ;
- Les résultats ont été ensuite comparés aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture selon la norme CLSI 7^{ème} édition 2014 (Voir annexe III)
- Les souches bactériennes ont finalement été classées dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

III.2.3. Tests de caractérisation sérologiques des bactéries ou la sérotypie par la méthode d'agglutination rapide sur lame

a. 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.

b. Equipement requis

- 1 – Une plaque transparente bien propre avec puits 2X4 (Citoglas, Angleterre) voir (Figure 12) ;
- 2 – Les réactifs monovalents *E.coli* aviaire : O1, O2, O78 (Biovac, France) (Figure 11).
- 3 – Colonies bactériennes isolées sur milieu non sélectif tryptocaséine soja (TSA) (Biolab, Algérie) (voir annexe IV). 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 11 : Réactifs monovalents *E.coli* aviaire (O1, O2, O78)
(Photo personnelle).



Figure 12 : Lame de sérotypage 8 puits (Photo personnelle).

c. Test

Une goutte de réactif a été déposée dans un puits de la plaque. A l'aide d'une pipette Pasteur ou d'une öse, on a prélevé 3 à 4 colonies. On les a mélangé au réactif pendant 5 secondes puis, ce mélange a été doucement agité pendant 30 secondes.

d. Lecture et interprétation des résultats

La lecture a été 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).

III.2.4. Analyse statistique

Le traitement statistique des données et les présentations graphiques ont été réalisés à l'aide d'un logiciel Microsoft Office Excel 2007. Pour la comparaison des résultats, nous avons appliqué 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 avons comparé nos résultats à chacune des autres études et non pas les études entre elles.

IV. Résultats et Discussion

Rappelons que nos objectifs étaient de :

- ❖ Isoler et identifier le germe *Escherichia coli* à partir des sujets présentant les lésions de la colibacillose : Congestion généralisée des organes et de la carcasse, et les lésions de la colibacillose respiratoire : Aérosacculite, Péricardite et la Périhépatite, triade lésionnelle pathognomonique lors de l'autopsie.
- ❖ Étudier leur sensibilité vis-à-vis de douze molécules différentes d'antibiotiques.

IV.1. Lésion d'autopsie

L'examen nécropsique de 40 sujets (Poulets de chair) suspects de colibacillose, autopsiés à la clinique de pathologie aviaire de l'ENSV a révélé les lésions suivantes :

IV.1.1. Aérosacculite

Lors d'une atteinte respiratoire, les lésions aillent du simple dépolissement (figure 13) à la formation d'omelette fibrineuse des sacs aériens conduisant à leur opacification (figure 14).

Les sacs aériens, entre autres, s'épaississent et présentent un aspect congestif, une lésion rencontrée lors de la forme respiratoire de la colibacillose. Cette observation rejoint ce qui est décrit par Brugère-Picoux *et al.*, (2015).



Figure 13 : photo du sac aérien (SA) (Photo personnelle).

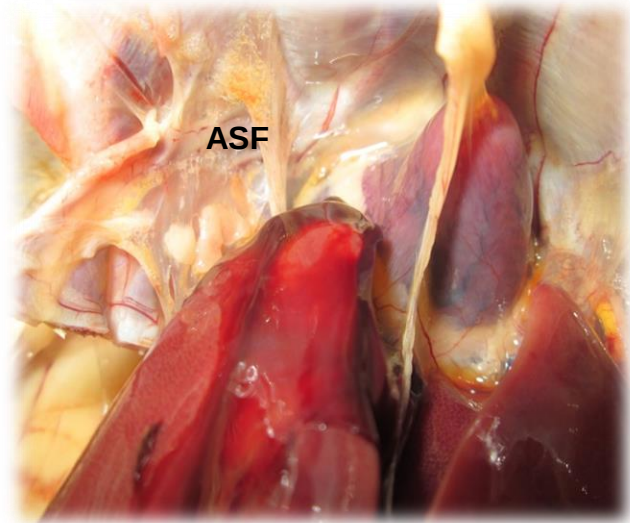


Figure 14 : Lésion d'aérosacculite fibrineuse (ASF). (Photo personnelle)

IV.1.2. Péricardite

Les sujets autopsiés présentent une inflammation plus ou moins exsudative du sac péricardique. La (figure 15) montre 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 16) présente une péricardite avec dépôt fibrineux important. La péricardite est rencontrée le plus souvent lors de la forme respiratoire de colibacillose comme rapporté par Villate (2001)

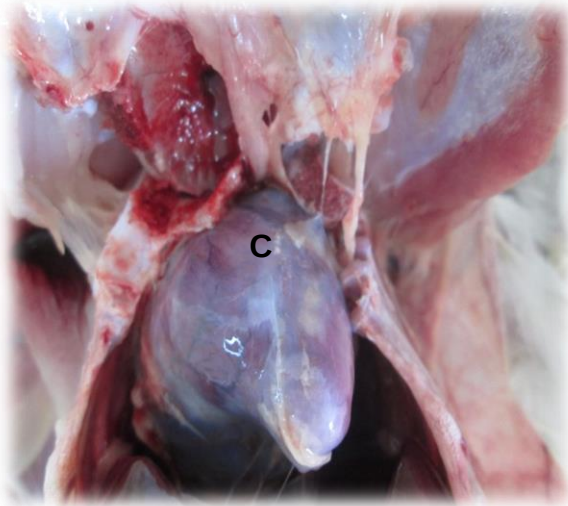


Figure 15 : Péricardite. (Photo personnelle)
(C : Cœur)



Figure 16 : Péricardite. (Photo personnelle)

IV.1.3. Perihépatite

Les sujets atteints présentent des lésions caractérisées par un foie hypertrophié et congestionné, avec une coloration très foncée (figure 17). Certains sujets présentent des zones de dégénérescence (figure 18). On peut aussi observer un foie verdâtre (due à l'oxydation de la bile), un épaissement du tissu et un dépôt de fibrine, ce qui rejoint l'observation de (Stordeur et Mainil, 2002). Le dépôt est tellement important parfois 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 est rencontrée dans les deux formes de la maladie, la forme respiratoire et la colisepticémie, comme observé par Brugère-Picoux *et al.*, (2015).



Figure 17 : Foie congestionné (Photo personnelle)

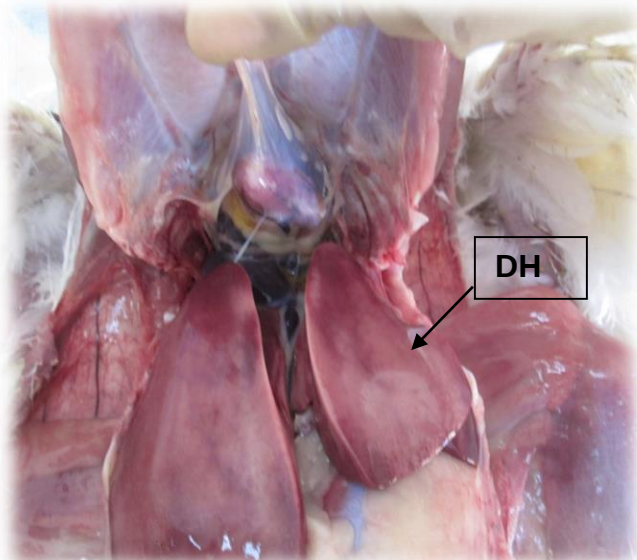


Figure 18 : dégénérescence hépatique (DH) (Photo personnelle)

IV.1.4. Congestion de la rate

Les lésions aussi observées sont des rates hypertrophiées, congestionnées et épaissies, avec parfois présence de points de nécrose (figure 19). Notre observation rejoint celle de Villate (2001).

La congestion de la rate (figure 20) est rencontrée lors de colisepticémie. Cela concorde avec ce que rapportent Stordeur et Mainil (2002).

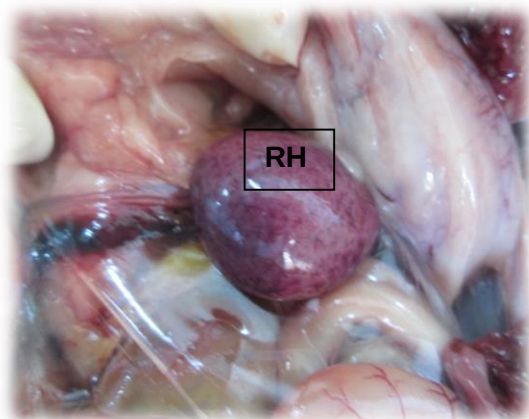


Figure 19 : Rate hypertrophiée (RH) (Photo personnelle)

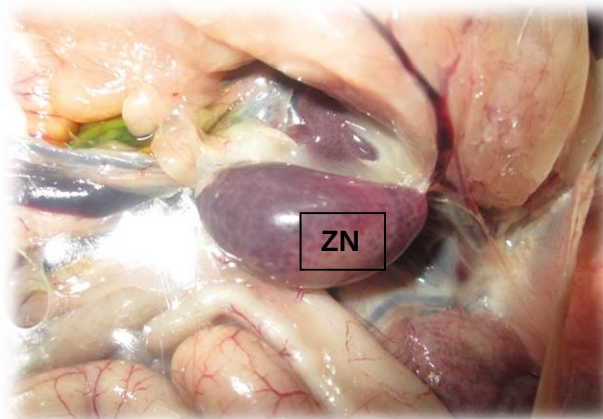


Figure 20 : Nécrose au niveau de la rate. (ZN : zone de nécrose) (Photo personnelle)

IV.2. Bactériologie

IV.2.1. Isolement et identification des *E. coli*

Sur un total des 40 prélèvements analysés, 30 isolats d'*E.coli* sont récoltés, soit 75% de nos sujets étaient positifs (figure 21).

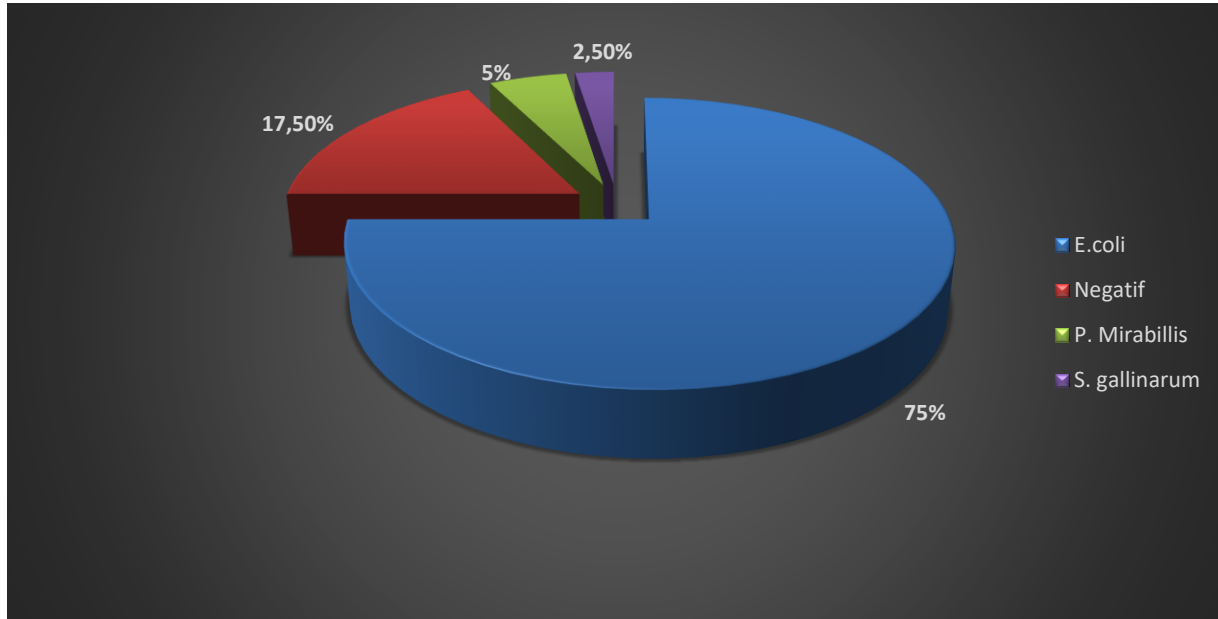


Figure 21 : Pourcentage des souches isolées lors de notre étude.

Pour les 10 sujets restants, la culture était négative dont 17,5% des cas ; bien que les sujets présentent les lésions de colibacillose. Nous expliquons cela que peut être les sujets étaient sous antibiothérapie ce qui a empêché la poussée des bactéries au laboratoire.

Dont 7,5% des cas ; autres entérobactéries ont été isolées comme : *Proteus mirabilis* et *Salmonella gallinarum*. Des études similaires ont mis en évidence que d'autres entérobactéries peuvent être isolées en même temps que les colibacilles comme rapporté par Messaï *et al.*, (2013).

IV.2.2. Sérotypage

Un sérotypage est effectué pour toutes les souches d'*Escherichia coli* isolées. Le sérotypage consiste à identifier la structure antigénique de ces bactéries.

Le résultat du sérotypage est présenté dans la (figure 22).

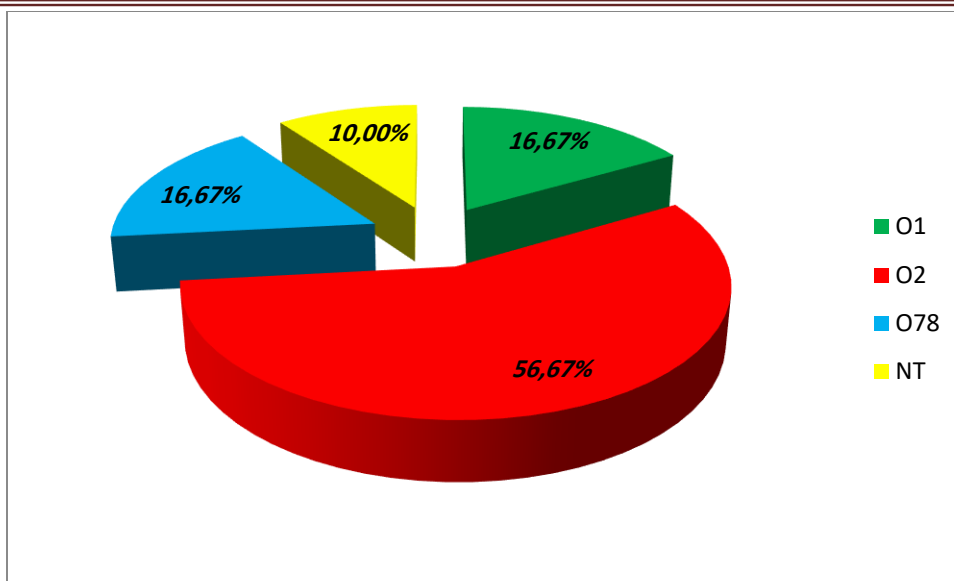


Figure 22 : Pourcentage des sérotypes de chaque souche isolée.

- Le sérotipe O1 était mis en évidence dans 5 cas soit 16.67% des *E.coli* isolées.
- Les bactéries ayant le sérotipe O2 étaient les plus identifiées avec un pourcentage de 56.67%.
- Le sérotipe O78 était observé dans 17 cas et donc 16.67%.
- Le sérotypage est non identifié dans 10% soit 3 cas sur les 30 isolés.

Ce qui nous intéresse dans l'identification des sérotypes des bactéries isolées ; c'est bien de savoir la pathogénie de chaque souche. En effet les 3 sérotypes observés O1 ; O2 et O78 font que 90% des *E.coli* identifiées font parties des sérotypes les plus pathogènes des APEC : *Avian Pathogenic Escherichia Coli* ; ce qui les différencie du reste des *E.coli* par un fort pouvoir pathogène qui se traduit par des lésions sévères et un taux de mortalité élevé Dho-Moulin et Fairbrother (1999).

IV.3. Antibiogramme

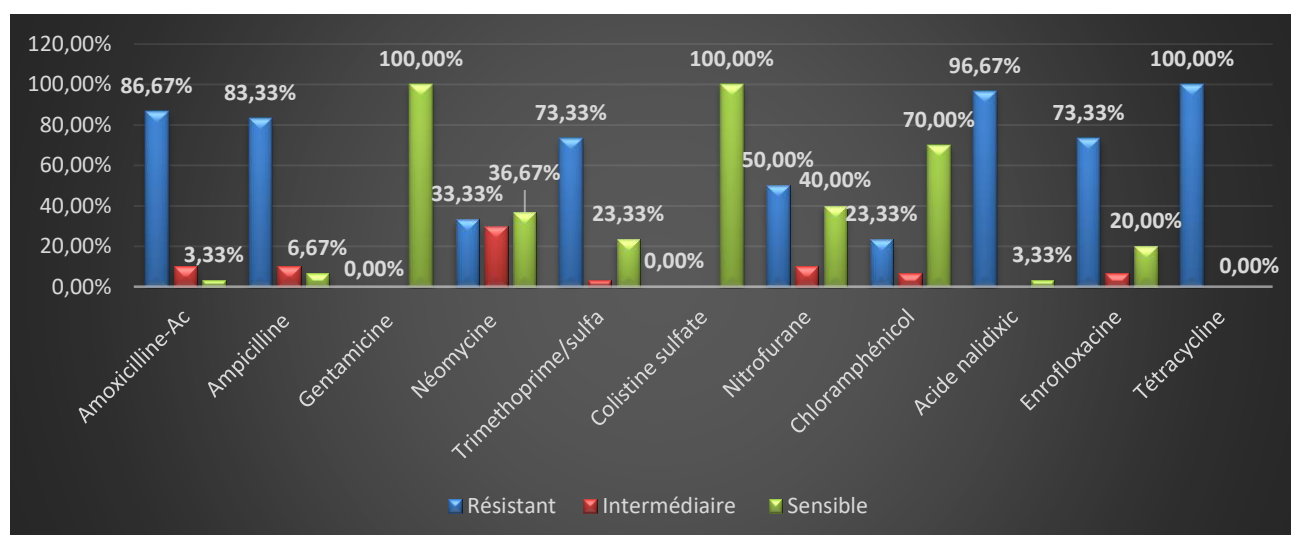
IV.3.1. Exposition de la situation générale des différents antibiotiques

L'antibiogramme a été réalisé sur toutes les souches d'*Escherichia coli* isolées. Ainsi la sensibilité des 30 souches d'*E coli* a été étudiée vis-à-vis des douze antibiotiques (voir annexe 5).

Une lecture qui détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche est utilisée en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec la table de lecture des entérobactéries selon les recommandations de la standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 7^{ème} édition (2014) (annexe 3). Le tableau 6 et la figure 23 montrent les pourcentages de résistance des souches *E. coli* isolées lors de notre étude.

Tableau 6 : Pourcentages des résistances des souches *E. coli* isolées N=30

Antibiotique	R+I	%
Amoxicilline-Ac	29	86.67%
Ampicilline	28	83.33%
Gentamicine	0	0%
Néomycine	19	33.33%
Triméthoprim/sulfaméthoxazole	23	73.33%
Colistine sulfate	0	0%
Nitrofurane	18	50%
Chloramphénicol	9	23.33%
Acide nalidixic	29	96.67%
Enrofloxacin	24	73.33%
Tétracycline	30	100%

Figure 23 : Pourcentages des résistances des souches *E. coli* isolées.

L'étude a révélé sensibilité totale des souches vis-à-vis de trois antibiotiques sur les douze testés qui sont : la gentamicine, colistine sulfate et la céphalosporine de 3^{ème} génération (utilisée pour la recherche de BLSE) avec un taux de 0% de résistance. Par ailleurs une résistance élevée pour plusieurs molécules a été observée ; on les cite par ordre décroissant : les tétracyclines avec un pourcentage de 100%, l'acide nalidixique avec un taux de 96.67% ; l'amoxicilline/Ac et l'ampicilline pour plus de 83% de résistance et enfin le sulfamide/triméthoprim et l'enrofloxacin avec un taux de 73%.

En vue la diversité des pourcentages, les résultats sont classées en trois groupes. Comme préconisé par Messai *et al.*, (2013).

- Les antibiotiques pour lesquels de très hauts niveaux de résistance sont observés (de 70 à 100%) sont compris dans le **Groupe I**. Ces antibiotiques sont par ordre décroissant : Tétracycline (100%), Acide nalidixique (96.67%), Amoxicilline/ Acide clavulanique (83.33%), Ampicilline (83.33%) et l'Enrofloxacin et Triméthoprime/ Sulfaméthoxazole (73.33%).
- Le **Groupe II** comprend des antibiotiques pour lesquels des niveaux moyens de résistance (de 30 à 70%) sont obtenus. Ce sont : Nitrofurane (50%) et Néomycine (33.33%),
- Le **Groupe III** comprend les antibiotiques pour lesquels des niveaux bas de résistance (de 0 à 30%) sont notés. Ce sont : Chloramphénicol (23.33%), Gentamicine et Colistine (0%).

Dans cette étude, il est clairement visible que les molécules les plus efficaces contre les colibacilles isolées sont celles qui sont classées dans le **Groupe III**, avec des taux de sensibilité plus élevés par rapport aux autres antibiotiques de différentes familles. Le taux de sensibilité est de 100% pour la Colistine et la Gentamicine, et de 70 % pour Chloramphénicol.

Ci-dessous un tableau 7 comparatif des taux de résistances des antibiotiques enregistrés dans quelques travaux réalisés en Algérie :

Tableau 7 : Fréquence des antibiorésistances dans notre étude et pour d'autres études en Algérie.

ATB	Nos Résultats (%)	Messai et al., (2013)(%)	Faci et Benbegri (2014)(%)	Beyaz et Cartelo (2015) (%)	HAFRI et al. (2017) (%)
Ampicilline	93.33	84.5	80	83.33	93.54
Amoxicilline/ Ac	96.67	87.8	82	80	80.64
Trimethoprime / sulfamide	76.66	82.2	68	76.66	80.64
Colistine	0	5.5	0	0	0
Acide nalidixique	96.67	96.7	88	93.33	80.64
Tétracycline	100	98.3	100	96.66	100
Chloramphénicol	30	45.6	40	20	58.06
Nitrofurane	60	18.9	14	30	12.90
Enrofloxacin	80	72.2	80	80	77.41
Néomycine	63.33	75	64	33.33	45.16
Gentamicine	0	5.5	0	6.66	16.12

 : Différence significative sur une même ligne. Le test de Chi² et de Yates avec une p valu ≤ 0.05 .

 : Pas de conditions pour faire le test.

On peut expliquer ça par :

- La différence des régions d'études : ce qui nous pousse à dire que les souches d'*E.coli* ne sont pas les mêmes dans les différents élevages ; et en vue les divers modes d'acquisition d'une antibiorésistance qui est d'apparition soudaine ; soumise à plusieurs conditions et ayant une évolution continue (mécanismes expliqués en partie bibliographique). Ce point-là peut faire un objet d'enquête pour les autorités concernées pour exposer l'état des lieux et suivre l'ampleur de cette antibiorésistance chaque année dans les 48 wilayas notamment.
- La différence de la méthodologie consacrée pour le travail ; de la qualité du prélèvement jusqu'aux produits utilisés.
- L'échantillonnage peut notamment biaiser en quelques sortes les résultats.
- Le risque d'apparition des antibiorésistances et l'émergence de nouvelles souches reste une hypothèse probable.

IV.3.2. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques

IV.3.2.1. Les Tétracyclines

Pour cette famille d'antibiotiques, un taux de résistance de 100% est enregistré. Cette molécule montre le taux le plus élevé comparée avec les molécules testées dans notre expérimentation. Ce taux de résistance pour cette molécule dans notre travail est supérieur à ceux d'autres travaux plus anciens en Algérie évalué à 82% dans la région Ouest du pays Hammoudi et Aggad (2008) et un taux de 98.3% dans la région Est Messai et *al.*, (2013). Cependant, nos résultats sont similaires à ceux rapportés dans le Centre Algérien Faci et Benbegri (2014).

Les tétracyclines représentent une des gammes de molécules les plus anciennement utilisées. Ces molécules ont une activité bactériostatique et un très large spectre ainsi que de très bonnes caractéristiques de diffusion tissulaire et intracellulaire comme rapporté par Gaudy et Buxeraud (2005), comme tous les antibiotiques dans le dernier siècle. Ils ont été utilisés en tant que promoteurs de croissance, engendrant des résistances très élevées en aviculture.

D'autres études ; à travers le monde ; ont montré des résultats qui confirment ce qu'on vient de rapporter concernant cette molécule. Citons à titre d'exemple : le taux de 100% chez Rahmatallah et *al.*, (2016) au Maroc et de 98.15% présenté par Ndiaye (2010) au Sénégal. Des chiffres moins inquiétants sont déclarés en France par Résapath (2018); qui est un programme étatique de suivi de l'antibiorésistance dans toutes les filières animales. Un taux de résistance de 38% seulement a été enregistré, ce qui a révélé une différence hautement significative par le test de Chi2.

La persistance et l'augmentation de cette résistance dans notre pays sont très inquiétantes, liées à l'usage abusif de ces antibiotiques en prophylaxie, mais également à leur incorporation systématique après vaccination dans l'alimentation des animaux d'élevage destinés à la consommation humaine. Abdennebi (2006) a rapporté que c'est des causes probables de l'apparition des souches résistantes ce qui rend cette molécule quasiment inutile pour traiter les pathologies aviaires ou au moins la colibacillose aviaire qui est très répandue sur terrain.

IV.3.2.2. Les β -lactamines

Nos résultats mettent en évidence une forte résistance des *E. coli* à ces antibiotiques, avec des taux de 96.67% pour Amoxicilline/ Ac clavulanique et de 93.33% pour l'Ampicilline.

Pour l'Amoxicilline/ Ac clavulanique, ce résultat est très élevé par rapport aux résultats de Hammoudi et Aggad (2008) avec 47%, et ça reste relativement élevé par rapport aux travaux de Faci et Benbegri (2014) dans la région Centre d'Algérie 82% et à Messai et *al.*, (2013) Avec un taux de 87.8%.

Pour l'Ampicilline, un taux de résistance de 93.33% est obtenu. Ce résultat est aussi élevé par rapport aux résultats de Hammoudi et Aggad (2008) avec 47%. Il reste supérieur à celui de (Faci et Benbegri, 2014) où ils ont enregistré un taux de 80% et pareil pour ceux de Messai et *al.*, (2013) dans la région de l'Est d'Algérie avec 84.5%.

Ces taux très élevés de résistance vis-à-vis de l'Amoxicilline / Ac clavulanique et de l'Ampicilline sont probablement liés à l'utilisation répandue et anarchique des Béta-lactamines dans les élevages avicoles de nos régions d'études sans prescriptions vétérinaires. Il existe une diversité de mécanismes de résistances du germe vis-à-vis de cette famille, déjà expliqué en bibliographie.

Ce qui nous inquiète le plus ; que par rapport aux anciens travaux algériens, nos résultats sont toujours les plus élevés et en comparant avec les données de Hammoudi et Aggad, (2008) et Messai et *al.*, (2013) la résistance vis-à-vis à ces mêmes molécules est dans un sens croissant ce qui nous permet de tirer la sonnette d'alarme en risquant de perdre les effets thérapeutiques jusqu'à 100% de ces antibiotiques dans pas très longtemps.

En comparant notre situation par rapport à d'autres pays ; comme par exemple la France, les données de Résapath (2018) ont bien démontré un taux de résistance de 12% uniquement pour L'Amoxicilline / Ac. clavulanique et de 25 % pour l'Ampicilline. Par contre ; tout comme nous une étude marocaine de Rahmatallah et *al.*, (2016) a montré une résistance élevée vis-à-vis à l'Amoxicilline avec un taux de 92.5% ; pareil à Dakar l'étude de Ndiaye (2010) a apporté les taux suivants : 75,93% pour amoxicilline

et 74,08% ampicilline ; ce qui donne un appécu sur la situation dans le territoire africain par rapport à la France.

IV.3.2.3. Les quinolones

Dans cette étude, la sensibilité des souches isolées est testée vis-à-vis à quinolones suivantes : l'Acide nalidixique, quinolone de première génération, et l'Enrofloxacin, quinolone de troisième génération. Les taux de résistance sont de 96.67% pour l'acide nalidixique et de 80% vis-à-vis de l'Enrofloxacin. Nos résultats pour ces deux molécules restent les plus élevés par rapports au reste des travaux effectués en Algérie ; une différence pas si importante puisque la p valu obtenue par le test de Chi2 était non significative (> 0.05) Voir tableau 7. Ce qu'on peut juste signaler par contre c'est la différence marquée avec le taux de 6% pour l'Enrofloxacin dans les études de Hammoudi et Aggad (2008)

La résistance aux quinolones est exclusivement liée à des mutations chromosomiques : sur les gènes codant pour les topo-isomérases, entraînant une perte d'affinité de l'enzyme pour les quinolones ; ou bien une augmentation du transport actif de l'antibiotique hors de la bactérie comme signalé par Gaudy et Buxeraud (2005) et Nauciel et Vilde (2008).

Ces taux très élevés de résistance à cette famille d'antibiotiques, peuvent être expliqués, en premier lieu, par la forte utilisation de ces molécules, en raison de 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, et en second lieu, au fait que les quinolones partagent un seul et même mécanisme d'action Messai et *al.*, (2013).

Les résultats en France sont comme toujours contradictoires par rapports à nous. Un taux de résistance de 39% a été enregistré pour l'Acide nalidixique et 5% seulement pour l'Enrofloxacin ce qui est surprenant en vue notre situation critique. La situation dans le pays voisin n'est pas si bonne du fait qu'un taux de 91.5% est observé dans l'étude de Rahmatallah et *al.*, (2016) au nord du Maroc.

IV.3.2.4. Les sulfamides

La sensibilité des souches dans notre cas est testée vis-à-vis de l'association triméthoprime/ sulfamide. Nos résultats montrent que 23 souches, soit 76.66 % sont résistantes. Ces derniers taux sont élevés par rapport aux résultats de Hammoudi et Aggad (2008) dans la région Ouest d'Algérie où ils ont enregistré un taux de 42%. Ils sont aussi supérieurs à ceux de Faci et Benbegri (2014) où ils ont noté un taux de 68%, et à ceux obtenus par Messai et *al.*, (2013) dans la région Est de l'Algérie (82.2%). Néanmoins, l'Algérie dans ce cas montre une situation moins inquiétante par rapport au Maroc avec un taux de 88.9% démontré par Rahmatallah et *al.*, (2016) et 94.5% au Sénégal décrit par Ndiaye (2010). Les taux

importants enregistrés sont probablement la conséquence de la forte prescription de cet anti-infectieux, utilisé notamment dans la prévention contre les salmonelles et quasi systématiquement en association avec des anticoccidiens dans le traitement et la prévention de ces dernières, conduisant ainsi à son inefficacité contre les colibacilles.

IV.3.2.5. Les aminosides

La sensibilité des souches isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de deux molécules : la néomycine, et la gentamicine.

Commençant par la néomycine, nous avons obtenu un taux de résistance de 63.33%, qui reste inférieur à celui de Messai et *al.*, (2013) dans la région de l'Est de l'Algérie avec 75% ; mais significativement élevé par rapport aux travaux de Beyaz et Cartelo (2015) pour 33.33% des cas enregistrés.

Par contre pour la gentamicine ; nos résultats révèlent un taux de résistance de 0% ce qui est inférieur à ceux de Messai et *al.*, (2013) avec 5.5% et de presque 17% pour Hafri et *al.*, (2017) ; les résultats étaient similaires avec Faci et Benbegri (2014) dans le Centre d'Algérie.

La forte sensibilité des souches *E.coli* vis-à-vis de la gentamicine avec un taux de 100% est due à la non utilisation de cet antibiotique dans les élevages avicoles. Dans certains pays, comme l'Iran, la gentamicine n'existe que sous la forme injectable (très récemment en poudre), forme non utilisée par 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 Messai et *al.* (2013).

La gentamicine est interdite d'utilisation chez la volaille depuis 2001 en Maroc. Malgré ceci, elle connaît un taux de résistance de l'ordre de 25 % dans les travaux de Rahmatallah et *al.*, (2016). Ce serait probablement lié à son utilisation hors du cadre légale (circuit de contre bande) chez la volaille.

Résapath (2018) a déclaré un taux de sensibilité de 99% pour cette molécule ce qui confirme encore une fois que plus une molécule est utilisée, plus on doit s'attendre à l'apparition de résistance. C'est pourquoi, l'usage très limitée de la gentamicine en aviculture du fait de son cout élevé explique sa plus grande efficacité.

IV.3.2.6. Les polypeptides

La sensibilité des souches est testée vis-à-vis de la molécule type de cette famille d'antibiotiques qui est la colistine, les résultats indiquent une résistance nulle avec un taux de 0%.

Nos résultats, sont inférieurs à ceux enregistrés par Hammoudi et Aggad (2008) avec 3% et de Messai et *al.*, (2013) avec 5.5 %, nos valeurs sont identiques à celle de Faci et Benbegri (2014) et Hafri et *al.*, (2017).

Ce taux nul de résistance peut être expliqué par l'utilisation modérée 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.

Concernant La colistine au Maroc ; elle connaît un taux de résistance relativement stable ces dernières années de 2,9 % malgré une utilisation accrue en pratique. Le faible taux de résistance est en majorité dû à son mode d'action sur les bactéries. En effet, la colistine possède une action létale sur les membranes bactériennes par interaction avec les protéines et les phospholipides membranaires (Rahmatallah et *al.*, 2016).

IV.3.2.7. 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 de 30 %. Nos résultats, sont inférieurs à ceux de Faci et Benbegri (2014) ; de Messai et *al.*, (2013) et de Hammoudi et Aggad (2008).

Ce médicament n'est plus sur le marché. Ces taux dans les études algériennes relativement élevés seraient donc à cause de la persistance d'une résistance déjà acquise, d'une résistance croisée ou plus vraisemblablement à une utilisation illégale de cet antibiotique. La même remarque est valable pour toute autre molécule interdite, entre autres les nitrofuranes (Faci et Benbegri, 2014).

Autrement dit : le Chloramphénicol est abandonné en Algérie après son interdiction en Europe. La persistance de la résistance à cette molécule enregistrée dans les années passées pourrait être attribuée au phénomène de Co-résistance liée au fait que les gènes de résistance au Chloramphénicol et d'autres antibiotiques (Tétracycline) sont portés par le même plasmide d'*E.coli*. L'utilisation de l'un de ces antimicrobiens peut entraîner la sélection de bactéries non seulement résistantes à cette molécule, mais des bactéries résistantes aux autres familles d'antibiotiques. La diffusion des gènes de résistance au Chloramphénicol continue même en absence de l'antibiotique dans l'environnement (Amairi et Azizi, 2018).

IV.3.2.8. Les furanes :

La résistance de nos souches vis-à-vis du nitrofurane pour lequel un taux de 60 % est noté. Nos résultats sont significativement supérieurs à toutes les autres études en Algérie.

Cet antibiotique ayant été retiré de la nomenclature vétérinaire montre une évolution inquiétante entre l'étude de Messai et *al.*, (2013) et notre étude en 2020 ce qui laisse supposer Est-ce-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 multi résistance aminoglycoside et Nitrofurane, ou, comme indiqué précédemment, en raison d'une utilisation illégale.

Tableau 8 : Fréquence des antibiorésistances dans d'autres études étrangères.

ATB	Hammoudi et Aggad (2008) (%)	Rahmatallah et <i>al.</i> (2016) (%)	Resapath France (2018) (%)
Ampicilline	47	/	20
Amoxicilline/ Ac	47	92.5	19
Trimethoprim / sulfamide	42	88.9	10
Colistine	3	7.9	/
Acide nalidixique	/	/	28
Tétracycline	82	100	29
Chloramphénicol	/	/	/
Nitrofurane	/	/	/
Enrofloxacin	6	91.5	3
Néomycine	/	/	2
Gentamicine	8	30.2	2

IV.3.3. Les multirésistances :

Parmi les 30 souches isolées, il n'existe aucune souche qui soit sensible à tous les antibiotiques testés à la fois. Bien au contraire toutes les souches existantes dans notre étude sont résistantes à au moins deux antibiotiques, avec un taux de 6.67%, ainsi le même taux est observé à chaque fois pour les souches résistantes à au moins 3 ; 4 ; ou bien 5 antibiotiques à la fois. Ce taux augmente jusqu'à 13.33% et représente les souches résistantes à 6 antibiotiques testés ; ne cesse d'augmenter pour atteindre les

33.33% pour la résistance vis-à-vis à 7 antibiotiques ; c'est le taux le plus élevé de notre expérimentation tandis que le 26.67% des souches qui restent sont résistances pour 8 molécules parmi les onze testés.

Mais il n'existe pas de souche résistante à 11 antibiotiques car toutes nos souches sont sensibles à la colistine et la gentamicine. Les taux sont présentés dans le tableau 9 et dans la figure 24

Tableau 9 : Pourcentages de multirésistances des souches *E.coli* isolés aux antibiotiques testés N=30.

Multirésistance	Nombre de souches	Pourcentage
Résistances à 2	2	6,67%
Résistances à 3	2	6,67%
Résistances à 4	2	6,67%
Résistances à 5	2	6,67%
Résistances à 6	4	13,33%
Résistances à 7	10	33,33%
Résistances à 8	8	26,67%

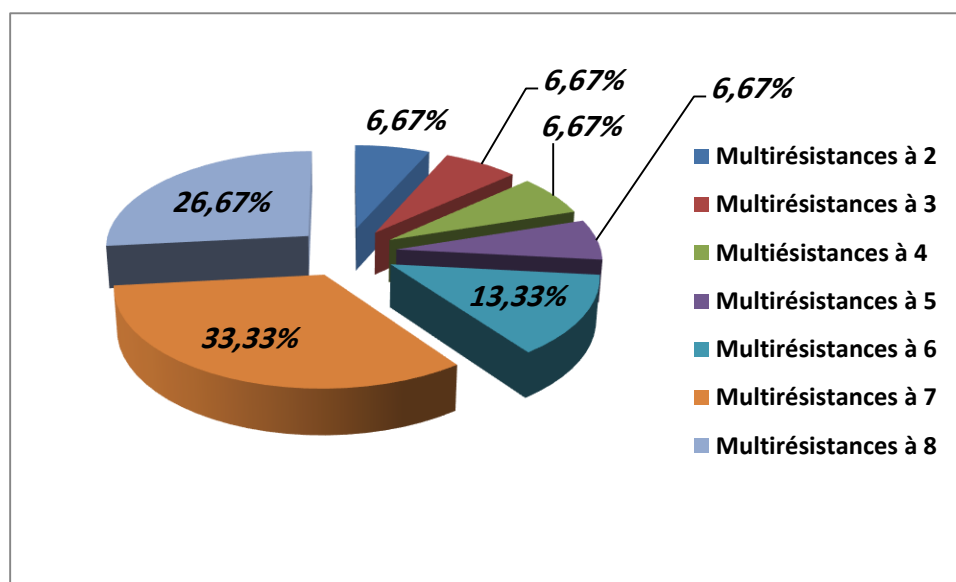


Figure 24 : Pourcentages des multirésistances des souches *E.coli* isolées

Cependant, les forts pourcentages de multirésistance sont enregistrés par ordre décroissant vis-à-vis de 7, 8 et 6 antibiotiques avec des pourcentages de 33.33, 26.67 et 13% respectivement.

Le tableau 10 nous permet de voir la différence entre nos résultats et ceux de Faci et Benbegri (2014) ; Beyaz et Cartelo (2015) ; et Hafri et *al.*, (2017) et malheureusement l'ensemble des résultats ne permettent pas une interprétation par comparaison à l'aide d'un test statistique ; puisque l'ensemble des

chiffres obtenus sont dans la majorité des cas < 10 ce qui les rend non utilisables via le test de Chi2. Néanmoins on peut remarquer que nos résultats concernant la multirésistance vis-à-vis à au moins 6 ; 7 ; et 8 antibiotiques sont les plus élevés. En plus l'absence dans notre cas de souche multirésistance à 9 antibiotiques ce qui est le cas pour le reste des études ainsi l'absence des souches strictement sensible à tous les molécules utilisées contrairement aux résultats de Beyaz et Cartelo (2015)

Tableau 10 : Fréquence des multirésistances dans notre étude et pour d'autres études en Algérie

Nombre d'antibiotiques	Nos Résultats 2020(%)	FACI et BENBEGRI (2014) (%)	BEYAZ CARTELO (2015) (%)	HAFRI et al. (2017) (%)
2	6.67	3	2	1
3	6.67	4	2	4
4	6.67	3	3	2
5	6.67	1	6	10
6	13.33	16	6	7
7	33.33	11	3	3
8	26.67	9	4	1
9	0	3	3	2
10	0	0	0	0
11	0	0	0	0

Cette forte multirésistance peut être due à l'utilisation anarchique et abusive des antibiotiques dans le secteur avicole, sans recours à l'antibiogramme. D'après le rapport de l'Office Fédérale de la Santé Publique sur la multirésistance des bactéries dans le domaine de la médecine vétérinaire au Cameroun, ce phénomène serait causé particulièrement par une utilisation d'antibiotiques comme promoteur de croissance pour les animaux. Les antibiotiques, étant utilisés de façon désordonnée ; dans l'enquête menée par Tatsadjieu Ngoune (2009) ; pour assurer concomitamment les fonctions zootechniques et thérapeutiques, impriment inévitablement une sélection qui favorise le développement des bactéries multirésistantes. Ils ont expliqué cette augmentation de la résistance par l'ajout incontrôlé d'antibiotiques dans l'alimentation du poulet.

Cette forte multirésistance est inquiétante car elle présente un énorme risque pour l'élevage avicole d'où des échecs aux traitements, et par conséquent diminution de la production à cause de taux de morbidité et de mortalité élevés.

IV.3.4. Les profils de résistances (Les antibiotypes)

Dans notre étude, 16 profils d'antibiorésistance différents ont été isolés, dont les plus importants sont rapportés dans le tableau 11 :

Tableau 11 : Principaux antibiotypes d'*E. coli* isolés

Symboles	Les profils	Nombre de souches	Pourcentages
A	AMC-AMP-N-SXT-NA-ENR-TE	2	6,67%
B	F-NA-TE	2	6,67%
C	AMC-AMP -SXT -NA-ENR-TE-N-C	2	6,67%
D	AMC-AMP -SXT -NA-ENR-TE-N-F	2	6,67%
E	AMC-AMP-SXT-NA-ENR-TE	2	6,67%
F	AMC-AMP-SXT -NA-ENR-TE-C	4	13,33%
G	AMC-AMP-SXT -NA-ENR-TE-F	7	23,33%

Parmi les 16 profils de multirésistance obtenus dans notre étude, sept expressions phénotypiques de résistances sont dominantes et désignées de **A** à **G**, dont deux attirent l'attention qui sont : le profil **G** avec un taux de 23.33% et le profil **F** avec 13.33%, ce qui confirme l'utilisation abusive et anarchique de ces produits en raison de leur large disponibilité sur le marché algérien à moindre coût avec l'absence de législation réglementant leur introduction à titre thérapeutique et préventif. Ainsi, plusieurs antibiotiques sont utilisés couramment, sans recours à l'antibiogramme pour choisir la molécule la plus efficace contre le germe en cause.

Ces résultats reflètent encore que le profil **A** est un élément de base pour les profils du **C** jusqu'à **G**. Dix-neuf parmi les 30 souches isolées contiennent ou expriment le profil **A** ; qui est une Co- résistance vis-à-vis de Amoxicilline/Ac, Ampicilline, Trimethoprim / Sulfamethoxazole, Acide Nalidixique, Enrofloxacin et Tétracycline) ; c'est-à-dire 63.33% de nos souches isolées expriment cette Co-résistance.

Ces souches peuvent transférer leur large antibio-résistance 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 ainsi la transmission épidémique de cette multirésistance. D'autre part, la contamination de l'homme par ces bactéries multirésistantes constituera l'une des causes majeures des difficultés de traitement chez l'homme. C'est ce qui a été démontré dans l'étude effectuée par Van Den Bogaard *et al.*, (2001) où ils ont isolé des souches *E. coli* chez les humains qui travaillent en promiscuité des poulets, exprimant les mêmes antibiotypes que les souches aviaires. Indiquant que la transmission de la résistance des souches aviaires aux souches humaines est possible.

À titre de remarque, des antibiotiques interdits de vente et d'utilisation en domaine avicole sont présents dans les profils de résistance. On cite à titre d'exemple le chloramphénicol et Nitrofuranes ; ce qui remet en cause le respect de la législation par l'ensemble des vétérinaires et éleveurs.

Conclusion

La colibacillose aviaire due à des souches APEC représente de plus en plus un réel danger pour nos élevages avicoles et cause des pertes économiques considérables ; en raison des taux élevés de mortalité et de morbidité, ainsi que de la diminution des performances qui se traduit par des retards de croissances, des déclassements et des saisies de carcasses aux abattoirs.

Nos résultats donnent un aperçu sur les niveaux élevés de résistance d'*E.coli* d'origine aviaire envers douze différentes molécules d'antibiotiques. Dans ce cadre et à partir de nos prélèvements, nous avons pu isoler 30 souches *E.coli*. Une fois identifié chaque isolat est soumis à un antibiogramme. En effet, la présente étude met en évidence une résistance plus marquée et tend à augmenter vis-à-vis aux antibiotiques suivants : Tétracyclines (100%), Amoxicilline (96.67%), Ampicilline (93.33%), Enrofloxacin (80%) et l'association Triméthoprim / Sulfaméthoxazole (76.66%). Au même temps ; toutes nos souches présentent une sensibilité de 100% vis-à-vis de la Gentamicine, Colistine et la Céfotaxime.

Ces résultats montrent clairement que l'utilisation anarchique des antibiotiques par les aviculteurs, sans avis vétérinaire, que ce soit dans un but thérapeutique ou préventive est une pratique courante. En réalité c'est la principale cause de sélection des bactéries résistantes et l'augmentation de la multi-résistance.

Dans notre expérimentation, des chiffres alarmants sont observés pour la multi-résistance des souches *E. coli* vis-à-vis de la majorité des molécules d'antibiotiques utilisés, avec un taux de 33% des souches isolées étaient résistantes aux 7 antibiotiques au moins, 27% contre au moins 8 antibiotiques et en général toutes les souches étaient au minimum résistantes contre 2 antibiotiques à la fois.

En résumé, l'usage accru et inapproprié des antibiotiques ; sans qu'il y ait recours à l'antibiogramme ; peut contribuer à la création de réservoirs de microorganismes résistants.

Recommandations

❖ En aviculture

Face à cette situation inquiétante, il semble intéressant de réduire l'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire en privilégiant l'amélioration des conduites d'élevage. Une amélioration de l'hygiène et le respect de la durée de vide sanitaire, une diminution du surpeuplement et la densité dans les élevages. L'ensemble de ces mesures préventives a pour but de maintenir l'efficacité des antibiotiques et pour réserver leur utilisation aux situations les plus graves.

Conclusion et recommandations

En vue de réduire les forts taux de résistance des souches *E. coli* d'origine aviaire aux antibiotiques, et afin d'améliorer l'élevage aviaire, les recommandations suivantes peuvent être émises :

- Respecter les bonnes pratiques d'hygiène est une nécessité absolue, tant pour des objectifs zootechniques que pour limiter la charge microbienne : c'est la base de la biosécurité.
- Respecter les normes d'élevage comme indiquées dans la fiche technique de chaque souche aviaire (température, hygrométrie, aération pour éviter l'accumulation des gaz, ammoniac en particulier).
- Réaliser l'antibiogramme avant toute démarche thérapeutique afin de prescrire la molécule idéale ciblée contre le germe en cause ;
- Autoriser l'utilisation des antibiotiques chez les animaux que par prescription vétérinaire. Et sensibiliser les éleveurs sur l'utilisation des antibiotiques sans avis vétérinaire ;
- Sensibiliser les vétérinaires et leur fournir des instructions pour réduire l'utilisation abusive et erronée des antibiotiques chez les animaux d'élevage en général. En expliquant aux éleveurs la médication ordonnée et le respect des doses et des temps d'application des antibiotiques. Au même temps les vétérinaires ont intérêt à assurer la qualité des produits qu'ils mettent à la disposition de ces éleveurs;
- Effectuer un antibiogramme rapide le jour de la consultation vétérinaire et prescrire un traitement intuitif en parallèle de l'antibiogramme classique qui peut prendre jusqu'à 3 jours de temps, afin de limiter les pertes économiques.

Cet ensemble de mesures nous permettra de retarder au mieux l'expansion de l'antibiorésistance chez les bactéries. Au même temps ça devrait permettre une lutte efficace contre la colibacillose.

❖ Protection de la santé publique

Ce développement de la résistance des bactéries aux antibiotiques peuvent affecter la santé de l'Homme. En effet, les élevages de poulets sont particulièrement propices à l'émergence de bactéries résistantes qui peuvent se disséminer dans l'environnement, vers l'Homme et d'autres animaux. Pour ces raisons là nous proposons les recommandations suivantes :

- Lancer un programme de formation des éleveurs en matière d'élevage, de surveillance et de contrôle pour éviter toute expédition de produits insalubres aux consommateurs ;
- Optimiser l'utilisation des antibiotiques chez l'homme et l'animal en effectuant un antibiogramme avant toute prescription ;

Conclusion et recommandations

- Créer des organismes de suivi et de surveillance de l'antibiorésistance bactérienne, permettant ainsi une meilleure compréhension des mécanismes de diffusion des gènes de résistance et de leurs supports génétiques dans l'espoir de minimiser le développement de la résistance aux antibiotiques.

Perspectives

Les résultats obtenus dans notre étude restent préliminaires, car cette dernière est limitée dans l'espace et dans le temps, et elle doit être complétée et approfondie par d'autres études, à savoir

- Élargir la présente étude dans le temps et dans l'espace ;
- Élargir l'étude sur d'autres groupes d'entérobactéries ;
- Compléter l'étude par les techniques de biologie moléculaire.
- Limiter l'utilisation des antibiotiques par l'introduction des produits biologiques tels que les probiotiques, les prébiotiques ou les huiles essentielles.

A

Abdennebi EH., 2006: Antibactériens en médecine vétérinaire. Actes Editions Maroc, 303 pages

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.

Alami M., Barret R., Brion JD., Enguehard-Gueiffia C., Foliot P., Gaudy C., Gerondeau N., Gueffier

Archambaud M., 2009 : Les antibiotiques. Laboratoire bactériologie et hygiène CHU Rangueil Toulouse.

B

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.

Brugère-Picoux J., 2015: Diagnostique différentiel des affections respiratoires des volailles. Rev médecine vét, 1069-1078.

C

Courvalin P., 2008: La résistance des bactéries aux antibiotiques: Combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. Bull. Acad Vét. France. Tome 161 - N°1

D

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.

Dho-Moulin., Fairbrother JM., 1999: Avian pathogenic Escherichia coli (APEC). Vet. Res. **30**, 299-316.

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 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.

E

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.

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., 2010: Original text on *E. coli*. Animal Health and Production Compendium, CD-ROM CAB International.

Frenay J., François R., Leclercq R., Riegek P., 2007: Précis de bactériologie clinique. 2^{ème} édition. Editions ESKA. p 1764.

G

Garnacho-Montero J., Ortiz-Leyba C., Jimenez-Jimenez FJ., Barrero-Almodovar AE, Garcia-Garmendia JL., Bernabeu-Winttall M., Gallego-Lara SL., Madrazo-Osuna J., 2003: Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin : a comparison with imipenem-susceptible VAP. Clin. Infect Dis. 36 (9), 1111-1118.

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. 3^{ème} édition. Editions France Agricole. 576 pages.

H

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.

Huff GR., Huff WE., Rath NC., Balog JM., 2000: Turkey osteomyelitis complex. Poult Sci. 79, 1050-1056.

J

Joly B., Reynaud., 2003: Entérobactéries, systématiques et méthode de diagnostic. Monographie de microbiologie. 2^{ème} édition. TEC & DOC. 356 pages.

Jordan FTW. Pattison M., 1996: Poultry diseases. W. B. Saunders Company: London, 38-43.

M

Mainil JG., Gerardin J., Jacquemin E., 2010: Identification of the F17 fimbrial subunit- and adhesin encoding (f17A and f17G) gene variants in necrotogenic *Escherichia coli* from cattle, pigs and humans. Vet. Microbiol. 73, 327-335.

MAJO N., DOLZ R., 2012: Autopsie des volailles. Collection Atlas. Les éditions du point vétérinaire. 82 pages.

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.

Moulin M., Coquerel A., 2002 : Pharmacologie Connaissance et Pratiques. 2^{ème} édition. Edition Masson. Paris, pages 845.

N

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.

Nauciel C., Vildé JL., 2008 : Bactériologie médicale. 2^{ème} éditions. Editions Masson. Page 257.

Neal M., 2007 : Pharmacologie médicale. 3^{ème} éditions. De Boeck. Paris, pages 80-85.

P

Page C., Curtis M., Sutter M., Hoffman B., 1999: Traduction de la 1^{ère} 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, maîtrise en microbiologie-immunologie, Université Laval.

Pattison M., Chettle N., Randall C.J., Wyeth P.J., 1989: Observations on swollen head syndrome in broiler and broiler breeder chickens. *Vet. Rec.*, **125**, 229- 231.

Pohl P., Mainil JG., 1995: F17 positive *Escherichia coli*. *Vet Res*, **137**, 623-624.

Pourbakhsh SA., Boulianne M., Martineau-Doize B., Fairbrother J.M., 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 J.M., 1997b : Dynamics of *Escherichia coli* infection in experimentally inoculated chickens. *Avian Dis* **41**, 221-233.

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.

R

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.

S

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.

Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Humaine et Vétérinaire à l'Echelle Nationale, selon les recommandations de L'OMS, 7^{ème} 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.

T

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.

V

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.

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.

Villate D., 2001: Maladies des volailles. Manuel pratique. 2^{ème} édition. Editions France Agricole. 399 pages.

W

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.

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.

Y

Yeni P., 2003 : Pathologie Infectieuse. Médecine Science, 3^{ème} édition, Flammarion. Paris, p : 237-246.

ANNEXE I



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 II

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)
H₂S	Sodium thiosulfate	0.075	Production d'H ₂ S	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 III

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 : <i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	≥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. Après confirmation, la souche BLSE+doit être rendue résistante à toutes les β-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
Triméthoprim+ 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	
Enrofloxacin	5 µg	≤16	17-20	≥21	≥2	0,5-1	≤0,25	
Espèce Aviaire (poulet et dinde)		≤16	17-22	≥23	≥2	0,5-1	≤0,25	
Espèce féline et canine		≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0,5	
Marbofloxacin (même valeurs pour l'espèce féline et canine)	5 µg	≤14	15-19	≥20	≥4	2	≤1	
Danofloxacin (espèce bovine)	5 µg	-	-	≥22	-	-	≤0,25	
Colistine	10 µg	-	-	-	>2	-	≤2	
Nitrofurantoïne**	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 IV

Compositions des Milieu utilisés :

1) Milieu d'enrichissement :

BHIB (BRAIN HEART INFUSION BROTH):

- Cœur de bœuf 5g
- Cerveau de veau 12,5 g
- Glucose 2g
- Peptone 10g
- Chlorure de sodium 5g
- Sodium dihydrogénophosphate 2,5g
- Eau distillée 1L
- pH = 7,4

2) Milieux d'isolement :

a- gélose de Glucose- Lactose- Saccharose- H₂S / 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 saccharose et la production D'H₂S.

Composition :

- Peptone de viande 15g
- Protéose 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 différenciation des bactéries lactose +, l'aspect des colonies d'*E. coli* sont rouges ou rose, pas mucoïde peut-être ronde avec un précipité 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

3) Milieu pour sérotypage :

Gélose trypto caséine soja TSA :

La gélose Tryptone-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 la 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 |
| • Hydrolysate acide de caséine | 17,5g |
| • Amidon | 1,5g |
| • Agar | 16g |
| • Eau distillée | 1L |
| • pH = 7,3 | |

ANNEXE V

Tableau V : Résultats de l'identification, antibiogramme et sérogroupage.

N°	Amoxicilline-Ac	Ampicilline	Cefotaxime	Gentamicine	Néomycine	Triméthoprim e/sulfa	Colistine sulfate	Nitrofurane	Chloramphénicol	Acide nalidixic	Enrofloxacin	Tétracycline	BLS E	Sérogroupe
	AUG	AMP	CTX	CN	N	SXT	CS	F	C	NA	ENR	TE		
	≤ 13 - ≥ 18	≤ 13 - ≥ 17	≤ 27 BLSE	≤ 12 - ≥ 15	≤ 13 - ≥ 18	≤ 10 - ≥ 16	≤ 10 - ≥ 11	≤ 14 - ≥ 17	≤ 12 - ≥ 18	≤ 13 - ≥ 19	≤ 16 - ≥ 23	≤ 14 - ≥ 19		
1	15 I	15 I	34	27 S	24 S	30 S	13 S	18 S	27 S	13 R	23 S	6 R	-	O78 ++
2	6 R	6 R	35	27 S	15 I	6 R	14 S	17 S	30 S	6 R	26 S	6 R	-	O78 ++
3	6 R	6 R	34	25 S	10 R	14 I	13 S	18 S	27 S	6 R	8 R	6 R	-	O1 +
4	6 R	6 R	40	27 S	15 I	6 R	15 S	14 R	11 R	6 R	9 R	6 R	-	O1++
5	6 R	6 R	35	27 S	14 I	6 R	14 S	21 S	23 S	6 R	26 S	6 R	-	O2+
6	6 R	6 R	32	27 S	14 I	21 S	14 S	19 S	28 S	6 R	23 S	6 R	-	O2++
7	12 R	15 I	36	30 S	26 S	32 S	16 S	23 S	26 S	21 S	40 S	6 R	-	O2+++
8	6 R	6 R	35	26 S	11 R	6 R	15 S	15 I	27 S	6 R	9 R	6 R	-	O2+
9	6 R	6 R	31	26 S	24 S	6 R	14 S	14 R	14 I	6 R	10 R	6 R	-	O2+
10	6 R	6 R	32	28 S	15 I	6 R	13 S	14 R	27 S	6 R	9 R	14 R	-	O1++
11	15 I	18 S	35	23 S	12 R	19 S	13 S	17 S	28 S	6 R	9 R	6 R	-	O1+
12	17 I	16 I	34	27 S	26 S	32 S	16 S	14 R	28 S	13 R	21 I	6 R	-	O2+
13	6 R	6 R	15 +	26 S	24 S	6 R	15 S	8 R	6 R	6 R	7 R	6 R	+	O2+
14	6 R	6 R	35	30 S	27 S	6 R	16 S	13 R	26 S	6 R	6 R	6 R	-	O78+
15	6 R	6 R	34	27 S	6 R	6 R	14 S	6 R	25 S	6 R	6 R	6 R	-	O2+
16	6 R	6 R	34	27 S	13 R	6 R	14 S	15 I	10 R	6 R	6 R	6 R	-	O2+
17	6 R	6 R	36	27 S	12 R	6 R	16 S	15 I	8 R	6 R	8 R	6 R	-	O2+
18	6 R	6 R	38	29 S	14 I	6 R	13 S	6 R	10 R	6 R	10 R	6 R	-	O78++
19	6 R	6 R	31	25 S	11 R	6 R	13 S	18 S	26 S	6 R	23 S	6 R	-	O2+
20	6 R	6 R	38	25 S	14 I	6 R	13 S	6 R	6 R	6 R	10 R	6 R	-	O2+
21	6 R	6 R	32	24 S	15 I	6 R	12 S	6 R	28 S	6 R	6 R	6 R	-	O2+
22	8 R	6 R	33	28 S	16 I	6 R	15 S	8 R	31 S	6 R	7 R	6 R	-	O2++
23	8 R	6 R	35	27 S	26 S	6 R	15 S	20 S	26 S	6 R	12 R	6 R	-	O2++

24	6	R	6	R	34		26	S	11	R	6	R	15	S	6	R	13	I	6	R	6	R	6	R	-	O2+
25	18	S	17	S	35		22	S	22	S	27	S	14	S	10	R	26	S	12	R	18	I	6	R	-	O2++
26	6	R	6	R	36		30	S	28	S	6	R	15	S	12	R	30	S	6	R	8	R	6	R	-	NT
27	6	R	6	R	35		28	S	25	S	6	R	15	S	19	S	28	S	6	R	12	R	6	R	-	NT
28	6	R	6	R	32		25	S	13	R	17	S	14	S	19	S	8	R	6	R	6	R	6	R	-	NT
29	6	R	6	R	32		27	S	13	R	6	R	15	S	18	S	25	S	6	R	6	R	6	R	-	O1++
30	6	R	6	R	32		26	S	19	S	6	R	15	S	12	R	28	S	6	R	6	R	6	R	-	O78+++

Résumé

Le développement du secteur de l'aviculture s'est accompagné d'une utilisation massive des antibiotiques aussi bien pour le traitement et la prévention des infections que pour l'amélioration des performances zootechniques. L'antibiorésistance est un réel problème en médecine vétérinaire avec un impact majeur en termes de santé publique. L'objectif de cette étude est d'évaluer la résistance microbienne aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli*, isolées à partir des poulets présentant des lésions de colibacillose, vis-à-vis de 12 molécules d'antibiotiques. Matériels et méthodes : 40 prélèvements ont été effectués, une identification des bactéries isolées a été réalisée avec une galerie API E20 révélant ainsi la présence d'*E. coli* dans 75% des prélèvements. Ces souches sont soumises à un antibiogramme sur la gélose Mueller Hinton. Les résultats ont montré une très bonne sensibilité vis-à-vis de la colistine et la gentamicine (100%). Par contre des résistances en augmentation continue ont été enregistrées, les plus marquées, les tétracyclines (100%) et les bêta-lactamines avec plus de (93.33%). Toutes les souches étaient multirésistances à au moins 2 antibiotiques. Pour conclure : L'utilisation accrue et abusive des antibiotiques a induit l'apparition de *E. coli* résistants à ces médicaments en effet, ces résistances sont devenues le bât blesse des éleveurs et des scientifiques et qui les conduisent à la mise en place de diverses stratégies pour éviter les situations d'impasses thérapeutiques.

Mot clés : *E.coli*, colibacillose aviaire, antibiorésistance, santé publique, multirésistance.

Summary

The development of the poultry sector has been accompanied by a massive use of antibiotics for both the treatment and prevention of infections and for the improvement of zootechnical performance. Antibiotic resistance is a real problem in veterinary medicine with a major impact in terms of public health. The objective of this study is to assess the microbial resistance to antibiotics of the *Escherichia coli* strains, isolated from chickens with colibacillosis lesions, for 12 molecules. Materials and methods: 40 samples were taken; an identification of the isolated bacteria was carried out with an API E20 gallery, thus revealing the presence of *E. coli* in 75% of samples. These strains are subjected to an antibiogram on Mueller Hinton agar. The results showed a very good sensitivity towards colistin and gentamicin (100%). On the other hand, resistances in continuous increase were recorded, the most marked, tetracyclines (100%) and beta-lactams with more (93.33%). All strains were multidrug resistant to at least two antibiotics. To conclude: The increased and excessive use of antibiotics has led to the appearance of *E. coli* resistant to these drugs indeed, these resistances have become a serious problem of breeders and scientists which lead them to the establishment of various strategies to avoid situations of therapeutic dead ends.

Keywords: *E.coli*, avian colibacillosis, antimicrobial resistance, public health, multidrug resistance

ملخص:

رافق تطور قطاع الدواجن استخدامًا مكثفًا للمضادات الحيوية لعلاج الالتهابات والوقاية منها ولتحسين الأداء التكنولوجي الحيواني. مقاومة المضادات الحيوية هي مشكلة حقيقية في الطب البيطري ولها تأثير كبير على الصحة العامة. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم المقاومة الميكروبية للمضادات الحيوية في سلالات الإشريشيا القولون المعزولة من الدجاج المصاب بداء القرنيات، ضد اثنا عشر مضاد حيوي. المواد والتقنيات: تم أخذ 40 عينة، وتم إجراء تحديد للبكتيريا المعزولة باستخدام معرض API E20، مما كشف عن وجود هذه البكتيريا في 75 ٪ من العينات. تتعرض هذه السلالات لمضادات حيوية على أجار مولر هينتون. أظهرت النتائج حساسية جيدة تجاه الكولستين والجنتاميسين (100٪). من ناحية أخرى، سجلت مقاومات بزيادة مستمرة، وأبرزها، التتراسكلين (100 ٪) وبيتا لاکتام مع أكثر (93.33 ٪). كانت جميع السلالات مقاومة لما لا يقل عن اثنين من المضادات الحيوية. في الختام: لقد أدى الاستخدام المتزايد والمسيء للمضادات الحيوية إلى ظهور الإشريشيا القولونية المقاومة لهذه الأدوية بالفعل، وقد أصبحت هذه المقاومة مشكلة المربين والعلماء والتي أدت بهم إلى إنشاء مختلف استراتيجيات لتجنب حالات النهايات العلاجية.

الكلمات المفتاحية: *E. coli*، داء قولون الطيور، مقاومة مضادات الميكروبات، الصحة العامة، مقاومة الأدوية المتعددة