

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE - ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTERE
EN SCIENCES VETERINAIRES

OPTION : MICROBIOLOGIE MEDICALE VETERINAIRE

Prévalence et profils d'antibiorésistance des souches *E. coli* isolées des poussins chair et œufs embryonnés au niveau d'un couvoir privé situé à Boumerdes

Présenté par : Dr ABBACHI Abdenour

Le jury :

Dr HAMDI T M. Professeur	ENSV Alger	président
Dr GOUCEM R. Maitre de conférence classe A Examineur	ENSV Alger	
Dr AIT OUDHIA K. Maitre de conférence classe A Examinatrice	ENSV Alger	
Dr BOUZID R. Maitre de conférence classe B Examineur	ENSV Alger	
Dr KHELEF DJ. Professeur Promoteur	ENSV Alger	

Année universitaire: 2013/2014

Remerciements

Je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné la force et le courage de mener à terme ce modeste travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement mon promoteur, Pr Khelef D, pour m'avoir encadré et orienté, avec son savoir et son esprit de recherche, et dont les conseils et les critiques m'ont été d'un apport précieux.

Mes vifs remerciements au Pr Hamdi TM, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de notre projet d'études.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Melle Ait Oudhia K, M. Goucem R et M. Bouzid R pour avoir accepté très aimablement de juger ce travail.

Et sans oublier M. Ghenim Taha Hocine, Mme Kechih, et Oubakouk Nafaa, ainsi que tout le personnel du laboratoire vétérinaire de DBK pour les aides précieuses qu'ils nous ont fournies afin d'élaborer ce travail.

Je tiens à remercier M. Bakhellal Brahim et ses frères Mustapha, Hamid et Ali, pour m'avoir permis l'accès à leur couvoir, sans oublier Dr Sabour, vétérinaire de la coopérative, qui m'a aidé dans la réalisation des prélèvements.

Mes vifs remerciements à Mme Zenia qui a réalisé l'étude statistique, ainsi qu'au personnel de la bibliothèque, particulièrement M. Dirami Hamid.

Enfin, nous adressons nos remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à tous les membres de ma famille, en particulier ma femme Souad, mon père, ma mère, et mes frères Marzouk, Mourad et Karim.

A mes sœurs Farisa, Djamila, ses enfants et son mari Akli, Nacira et ses filles ainsi qu'à son mari Remdane.

Je le dédie également à tous mes amis

A mon co-promoteur : Docteur Goucem

Et particulièrement mon ami Zitouni Tarik

Résumé

La colibacillose aviaire est responsable de grandes pertes économiques, dans le secteur avicole, vue son incidence dans les élevages et les saisies qu'elle entraîne à l'abattoir.

L'objectif de notre étude est d'évaluer d'une part la prévalence de contamination, par les souches APEC (avian pathogenic *E. coli*), des poussins et œufs dans le couvoir et d'autre part d'étudier les profils de résistance à des antibiotiques, selon les normes NCCLS recommandés par l'OMS pour les entérobactéries, afin de déterminer les anti-biotypes circulant.

42 souches d'*E. coli* ont été isolées de 300 poussins et 300 œufs embryonnés, suspectés contaminés par *E. coli*, au couvoir sis à Taourga.

La prévalence de la contamination été de 71,18% avec un intervalle de confiance de [59.6, 82.7] %.

L'antibiogramme, réalisé par la méthode de diffusion sur gélose, a révélé différents taux de résistances qui sont par ordre décroissant : tétracycline 97,61%, acide nalidixique 90,48%, amoxicilline + acide clavulanique 73,81%, oxfloxacine 80,95%, triméthoprim 66,67%, kanamycine 28,57%, nitrofurantoin 21,43%, cephalotine 9,52%, chloramphénicol 7,14%, gentamycine 2,38% et aucune résistance n'est enregistrée pour la colistine et céftiofur. Vu que toutes les souches sont sensibles à la céftiofur (céphalosporine de 3^{ème} génération), 0 souches seraient productrices de β -lactamase à spectre élargi (BLSE). Par ailleurs, l'analyse de la multi résistance a révélé que toutes les souches sont résistantes à au moins 2 antibiotiques. Cette antibiorésistances pourrait être expliquée par l'utilisation abusive et anarchique d'antibiotiques, sur le terrain, qui conduit à la sélection des souches bactériennes résistantes.

Mots clés : colibacillose, antibiorésistances, *Escherichia coli*, poulet de chair.

Abstract

Avian colibacillosis represent one of the most important of economic losses in the poultry sector and is one of the most frequent causes of carcass rejection, in the slaughter house. The objective of our study is to evaluate on the one hand the prevalence of contamination, by strains APEC (avian pathogenic *E. coli*), of chicks and eggs in the hatchery and on the other hand to study the profiles of resistance to antibiotics, according to standards' NCCLS recommended by (who) for the enterobacteriaceae, in order to determine the anti-biotypes circulating.

42 strains of *E. coli* were isolated from 300 chicks and 300 eggs, suspects contaminated by *E. coli* in the hatchery located in Taourga. The prevalence of the contamination is 71,18 % with a confidence interval from [59.6, 82.7] %.

The antimicrobial susceptibility test, carried out by the method of diffusion on agar, revealed various rates of resistance which are by descending order: tetracycline 97,61%, nalidixic acid 90,48%, amoxicilline + acid clavulanic 73,81%, oxfloxacine 80,95%, triméthoprim 66,67%, kanamycine 28,57%, nitrofurantoin 21,43%, cephalotine 9,52%, chloramphenicol 7,14%, gentamycine 2,38% and no resistance is recorded for the colistine and céftiofur. Considering all the strains are sensitive to the céftiofur (cephalosporine of 3rd generation), 0 strain would be producing of expanded spectrum β -lactamase (ESBL). In addition, the results of the multi resistance revealed that all strains are resistant to at least 2 antibiotics. This antibiotic resistance may be explained by the abusive and anarchic use antibiotics, on the ground, which leads to the selection of the resistant bacterial strains.

Key words: colibacillosis, antibiotic resistance, *Escherichia coli*, broiler chicken

المخلص

الكوليباسيلوز الدواجن مسؤولة عن خسائر اقتصادية فادحة في مجال تربية الدواجن نظرا لارتفاع نسبة انتشارها في المداجن و حالات الحجز في المداجن

الهدف من هذه الدراسة هو تعيين النسب المئوية لعدد الحالات التي تم فيها اعداء الصيصان و البيض الذي لم يفقص من طرف الاشيريشيا كولي من جهة و دراسة وجه المقاومة ضد المضادات الحيوية وفق المعايير المحددة من طرف المنظمة العالمية لصحة من اجل تحديد اصناف الاشيريشيا كولي المتواجدة في اماكن الدراسة

42 وحدة من الاشيريشيا تم عزلها من 300 صوص و 300 بيضة مشكوك انها مصابة بالاشيريشيا و هذا في محضنة المتواجدة في تاورقة

نسبة حالات العدوى هي 71.18%

تم انجاز اختبار المقاومة للوحدات التي تم عزلها اتجاه المضادات الحيوية و كانت النتائج كالتالي □ نيترا سيكلين 97.61% حمض النالديكسيك 90.48% اموكسيسيلين 73.81% اوكسفلوكساسين 80.95% تريميتو بريم 66.67% كاناميسين 28.57% نيتروفيرانتوين 21.43% سيفالوتين 9.52% كلورومفينيكول 7.14% جنتاميسين 2.38% و 0% لكل من كوليسيتين و سيفتيوفر

نضرا لحساسية كل الوحدات المعزولة لالسيفتيوفر فانها غير منتجة لل BLSE

من جهة اخرى تحاليل تعدد لمقاومات بينت انه كل الوحدات مقاومة لمضادين حيويين على الاقل و هذه المقاومة ضد المضادات الحيوية يعود سببها الى الاستعمال العشوائي و الغير عقلاني المضادات الحيوية من طرف مربي الدواجن دو استشارت الطبيب البيطري .

كلمات المفتاح □ الكوليباسيلوز , مقاومة المضادات الحيوية, الاشيريشيا كولي, الدواجن.

Liste des abréviations

LPS : lipopolysaccharides
NM : Non mobile
E. coli : *Escherichia coli*
ECEP : *E. coli* entéropathogènes
ECET : *E. coli* entérotoxinogènes
ECEI : *E. coli* entéroinvasifs
ECEH : *E. coli* entérohémorragiques
ECEAg : *E. coli* entéroagréatifs
ECAD : *E. coli* à adhésion diffuse
STEC : SHIGA toxine *E. coli*
APEC : *E. coli* pathogène aviaire
ExPEC : *E. coli* pathogène Extra intestinal
SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique
VT : Vérotoxines
GEI : Gastro-entérite infantile
STx : Shiga toxine
AE : lésion type Attachement-Effacement
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
μ : micron
% : pourcentage
Gram- : Gram négatif
SPP : sous espèce
mg : milligramme
kg : kilogramme
ATB : Antibiotique
D-ala-D-ala : D-alanine-D-alanine
PLP : Protéine Liaison Pénicilline
IM : Intramusculaire
SC : Sous cutané
S : Sensible
I : Intermédiaire
R : Résistant
°C : Degré Celsius
h : heure
Api 20 E : Api 20 Entérobactéries
° : degré
mm : millimètre
mn : minute
X 1000 : grossissement fois mille
ml : millilitre
μg : microgramme
p : Seuil de signification
< : Inférieur
> : Supérieur
ATCC : American Type Culture Collection
TSI : Tri Sugar Iron
NCCLS : National Committee of Clinical Laboratory Standards
C3G : Céphalosporine de troisième génération
C1G : Céphalosporine de la première génération
BLSE : β-lactamase à spectre élargi

LISTE DES FIGURE

Figure 1 : Action des sulfamides sur les métabolismes intermédiaires.....	29
Figure 2 : Prélèvement dans des pots stériles bien identifiés.....	38
Figure 3 : Enrichissement dans le milieu BHIB (photo personnelle).....	38
Figure 4 : Tubes du milieu TSI.....	40
Figure 5 : Aspect macroscopique des colonies d' <i>E. coli</i> sur milieu McKonkey.....	51
Figure 6 : Galeries API 20 ^E avant et après incubation.....	52
Figure 7 : Antibiogramme après incubation 18 h à 35°C.....	52
Figure 8 : Pourcentages des résistances des souches <i>E. coli</i> isolées.....	53
Figure 09 : pourcentages de multi résistance des souches <i>E. coli</i> isolées.....	63

Liste des tableaux

Partie bibliographique

Tableau 1 : Caractères biochimiques d' <i>E. coli</i>	4
Tableau 2 : Pathovars les plus importants et facteurs de virulence d' <i>E. coli</i> causants des maladies chez les espèces aviaires.....	9
Tableau 3 : Diagnostic différentiel de la colibacillose aviaire.....	20

Partie expérimentale

Tableau 4 : Caractères biochimiques recherchés par les milieux TSI et Urée-Indole.....	42
Tableau 5 : Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches <i>E. coli</i>	53
Tableau 6 : Fréquences d'antibiorésistances dans notre étude et pour d'autres auteurs.....	55
Tableau 7 : Pourcentages de multi résistance des souches <i>E. coli</i> aux antibiotiques.....	62
Tableau 8 : Fréquences de multi résistances dans notre étude et pour divers auteurs.....	63
Tableau 9 : Liste des anti biotypes l' <i>E. coli</i> isolés	66

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I	
I. Bactériologie générale	3
I.1. Introduction	3
I.2. Historique	3
I.3. Classification	3
I.4. Caractères bactériologiques	3
I.4.1. Souches typiques d' <i>Escherichia coli</i>	3
I.4.1.1. Morphologie et culture	4
I.4.1.2. Caractères biochimiques	4
I.4.2. Souches atypiques d' <i>Escherichia coli</i>	4
I.5. Propriétés antigéniques	4
I.5.1. Les antigènes somatiques O	5
I.5.2. Les antigènes flagellaires H	5
I.5.3. Les antigènes capsulaires K	5
I.5.4. Les antigènes de surface F	5
I.6. Habitat, pouvoir pathogène naturel et facteurs de pathogénicité	6
I.6.1. Chez l'homme	6
I.6.1.1. <i>E. coli</i> entéropathogènes (ECEP)	6
I.6.1.2. <i>E. coli</i> entérotoxinogènes (ECET)	6
I.6.1.3. <i>E. coli</i> entéroinvasifs (ECEI)	6
I.6.1.4. <i>E. coli</i> entérohémorragiques (ECEH)	7
I.6.1.5. <i>E. coli</i> entéroagréatifs (ECEAg)	7
I.6.1.6. <i>E. coli</i> à adhésion diffuse (ECAD)	7
I.6.2. Chez les animaux	7
I.6.2.1. ETEC	7
I.6.2.2. STEC	8
I.6.2.3. EPEC	8
I.6.2.4. ExPEC	9
CHAPITRE II	
II. Les infections à <i>Escherichia coli</i>	10
II.1. Introduction	10
II.2. Historique	10
II.3. Définition	10
II.4. Importance économique et sanitaire	10
II.5. Étiologie	11
II.6. Classification	11
II.7. Épidémiologie	11
II.7.1. Facteurs prédisposants	12
II.7.2. Facteurs favorisants	12
II.7.3. Facteurs de virulence	12
II.7.3.1. Adhésines	12

II.7.3.1.1.	Fimbriae de type 1	12
II.7.3.1.2.	Fimbriae de type P	13
II.7.3.1.3.	Autres adhésines	13
II.7.3.2.	Résistance au sérum (pouvoir bactéricide du complément) et à la phagocytose	13
II.7.3.3.	Aérobactine	14
II.7.4.	Toxines	14
II.7.5.	Héماغglutination	15
II.7.6.	Gènes régulateurs de virulence	15
II.8.	Pathogénie	15
II.9.	Les infections à <i>E. coli</i>	16
II.9.1.	Omphalite / inflammation du sac vitellin	16
II.9.2.	Colibacillose respiratoire	17
II.9.2.1.	Sur le plan clinique	17
II.9.2.2.	Sur le plan lésionnel	17
II.9.2.3.	Sur le plan microscopique	18
II.9.3.	Colisepticémie	18
II.9.3.1.	Sur le plan clinique	18
II.9.3.2.	Sur le plan lésionnel	18
II.9.4.	Dermatite nécrotique	18
II.9.5.	Arthrites et synovites	19
II.9.6.	Entérite	19
II.9.7.	Maladie de Hjärre	19
II.9.8.	Ovarite et salpingite chronique chez l'adulte	20
II.10.	Diagnostic	20
II.10.1.	Clinique et nécropsique	20
II.10.2.	Diagnostic différentiel	20
II.10.3.	Diagnostic de laboratoire	21
II.10.3.1.	Isolement et identification	21
II.10.3.2.	Caractérisation des souches pathogènes	21
II.11.	Traitement	21
II.12.	Prophylaxie	22
II.12.1.	Sanitaire	22
II.12.2.	Médicale	23
II.13.	Conclusion	24
CHAPITRE III		
III.	Antibiotiques et antibiorésistance	24
III.1.	Introduction	24
III.2.	Historique	24
III.3.	Définition	24
III.4.	Caractéristiques	24
III.4.1.	Toxicité sélective	24
III.4.2.	Spectre d'activité	25
III.5.	Activité antibactérienne	25

III.5.1.	La bactériostase (effet bactériostatique)	25
III.5.2.	La bactéricidie (effet bactéricide)	25
III.6.	Classification	25
III.7.	Mode d'action des principales familles d'antibiotiques	26
III.7.1.	Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane (paroi)	26
III.7.1.1.	β -lactamamines	26
III.7.1.2.	Glycopéptides	27
III.7.2.	Antibiotiques inhibant la synthèse protéique	27
III.7.2.1.	Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome	27
III.7.2.1.1.	Aminosides	27
III.7.2.1.2.	Tétracyclines	28
III.7.3.	Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome	28
III.7.3.1.	Chloramphénicol	28
III.7.3.2.	Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)	28
III.7.4.	Antibiotiques inhibant le facteur d'élongation G	28
III.7.5.	Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques	29
III.7.5.1.	Sulfamides et triméthoprim	29
III.7.5.2.	Quinolones	29
III.7.5.3.	Nitrofuranes et nitroimidazoles	30
III.7.5.4.	Antibiotiques agissant sur les membranes (Polymyxines)	30
III.8.	L'antibiorésistance	30
III.8.1.	Introduction	30
III.8.2.	Historique	30
III.8.3.	Définition	30
III.8.4.	Les différents types de résistance	31
III.8.4.1.	La résistance naturelle	31
III.8.4.2.	La résistance acquise	31
III.8.5.	Biochimie de la résistance	31
III.8.5.1.	Résistance croisée	31
III.8.5.2.	Co-résistance	32
III.8.6.	Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques	32
III.8.6.1.	Inactivation enzymatique de l'antibiotique	32
III.8.6.1.1.	β -lactamases	32
III.8.6.1.2.	Enzymes inactivant les aminosides, chloramphénicol et macrolides	32
III.8.6.2.	Modification de la cible	32
III.8.6.3.	Diminution de la perméabilité	33
III.8.6.4.	Excrétion de l'antibiotique par efflux	33
III.8.7.	Mécanismes génétiques de la résistance	33
III.8.8.	Conséquences de la résistance aux antibiotiques	33
III.9.	Conclusion	34
Étude expérimentale		
1.	Objectifs	35
2.	Lieu et période de l'étude	35
3.	Matériel et méthodes	35

3.1. Matériel	35
3.1.1. Échantillonnage et prélèvements	35
3.1.2. Présentation des infrastructures	35
3.1.3. Milieux de culture	36
3.1.4. Produits de laboratoire	36
3.2. Méthodes	36
3.2.1. Conduite expérimentale	36
3.2.2. Prélèvements	38
3.2.2.1. Bactériologie	38
3.2.2.2. Isolement des <i>Escherichia coli</i>	38
3.2.2.2.1. Enrichissement	38
3.2.2.3. Ensemencement	39
3.2.2.4. Identification des <i>E. coli</i>	39
3.2.2.4.1. Identification morphologique	39
3.2.2.4.2. Identification biochimique	39
3.2.2.4.2.1. Catalase	39
3.2.2.4.2.2. Oxydase	40
3.2.2.4.2.3. Test des trois sucres (TSI)	40
3.2.2.4.2.4. Test de l'uréase	41
3.2.2.4.2.5. Test de l'indole	41
3.2.3. Identification biochimique par API 20 E	42
3.2.4. AntibioGramme	47
3.2.4.1. Principe	47
3.2.4.2. Technique	47
3.2.4.3. Recherche des β -lactamases à spectre élargi	49
4. Résultats et discussion	51
4.1. Isolement et identification des souches <i>E. coli</i>	51
4.1.1. Caractères morphologiques	51
4.1.2. Caractères biochimiques	51
1.1. AntibioGramm	52
1.2. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques	56
1.2.1. β -Lactamines	56
1.2.2. Céphalosporines	56
1.2.3. Tétracyclines	57
1.2.4. Les quinolones	58
1.2.5. Les Sulfamides	59
1.2.6. Les aminosides	60
1.2.7. Les polypeptides	60
1.2.8. Les Phénicolés	61
1.2.9. Les furanes	61
1.3. Les multi-résistances	62
1.4. Résistance vis-à-vis de deux antibiotiques et plus	64
1.5. Résistance vis-à-vis de quatre antibiotiques et plus	64
1.6. Résistance vis-à-vis de cinq antibiotiques et plus	64
1.7. Résistance vis-à-vis de six antibiotiques et plus	65

1.8. Résistance vis-à-vis de sept antibiotiques et plus	65
1.9. Résistance vis-à-vis de huit antibiotiques et plus	65
1.10. Les antibiogrammes (profils de résistance, phénotypes)	65
conclusion et recommandations	
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Ces dernières décennies, la production et la consommation de volailles ont considérablement évolué. Les progrès en génétique et en nutrition ont favorisé une expansion phénoménale de cette production qui a su répondre à l'augmentation remarquable de la demande pour ces produits (Vaillancourt, 2009).

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

En ce qui concerne les maladies respiratoires, plusieurs facteurs peuvent intervenir, agissant en synergie avec les colibacilles souvent considérés comme agents pathogènes.

La colibacillose aviaire est une pathologie dominante dans les problèmes respiratoires des volailles en élevage industriel. C'est une maladie infectieuse, contagieuse, inoculable dans certaines conditions, due le plus souvent à des souches de sérotypes O₁K₁, O₂K₁ et O₇₈K₈₀ réputés hautement pathogènes (Gross *et al.*, 1991 ; Mogenet *et al.*, 1997 ; Chanteloup *et al.*, 1991 ; Charles *et al.*, 1994 ; Cloud *et al.*, 1986). Les autres sérotypes représentés de manière significative sont : O₈, O₁₅, O₁₈, O₃₅, O₈₈, O₁₀₉, O₁₁₅ et O₁₁₆ (Brée *et al.*, 1989 ; Dho Moulin *et al.*, 1990 ; Babai *et al.*, 1997, Dho Moulin et Fairbrother, 1999, Blanco *et al.*, 1997).

Cette affection, à point de départ respiratoire, est secondaire à une infection virale ou mycoplasmique, et se traduit cliniquement par des lésions fibrineuses des séreuses (péricardite, périhépatite) et conduit par la suite à une septicémie entraînant la mort de l'animal. Son importance hygiénique est pratiquement nulle, bien que quelques souches pathogènes pour les volailles se rencontrent également dans les néphrites et les cystites de l'homme (Charles *et al.*, 1994).

Ces dernières années, l'incidence de la maladie s'est notablement accrue, augmentation imputable au développement des méthodes d'élevage intensif dans tous les secteurs de l'aviculture. La colibacillose aviaire est une maladie fréquente, économiquement importante en élevage industriel de volailles. Une des principales causes de mortalité chez les poulets et les dindes, elle est une cause importante de pertes économiques dans l'élevage industriel des volailles, de même qu'elle représente une cause de saisies à l'abattoir (El Fadil *et al.*, 1996).

Selon une étude réalisée dans les abattoirs anglais, 43% des carcasses saisies pour cause de maladie présentent des lésions de péricardite, de périhépatite et d'aérosacculite typiques de la colibacillose.

On estime à environ 5 ou 6 millions d'euros par an les montants des pertes dues à la colibacillose en Angleterre (Yogarathnam, 1995). À cela viennent s'ajouter les retards de croissance, les mortalités en élevage et les frais en antibiothérapie qu'engendrent les diverses manifestations de cette maladie.

La colibacillose est souvent considérée comme une infection secondaire (Nakamura *et al.*, 1992), à l'exception de l'infection de la membrane vitelline. Les pertes dues à la colibacillose sont si importantes que l'on doit s'attacher à trouver un traitement ou une prophylaxie efficace (Chanteloup *et al.*, 1991).

Étant donné le peu de connaissances sur l'importance de la diversité des souches d'*E. coli* aviaires en matière de facteurs de virulence, aucun vaccin n'est disponible à l'heure actuelle pour lutter efficacement contre la maladie. En conséquence, une fois le diagnostic établi, l'antibiothérapie reste le seul moyen de lutte contre la maladie. Cette situation a poussé les éleveurs à un usage abusif et erroné des antibiotiques, en occultant le fait qu'ils participent à l'émergence de bactéries résistantes, voire multirésistantes, qui peuvent entraîner de sérieux risques pour la santé humaine.

Plusieurs études ont été menées dans différentes régions dans le monde afin de déterminer la fréquence de la résistance des souches *E. coli* aux différentes familles d'antibiotiques utilisées en espèce aviaire. Les résultats obtenus sont inquiétants et indiquent la présence d'une grande fréquence des résistances aux antibiotiques, qu'elles soient individuelles ou multiples.

C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude qui a pour objectifs, dans un premier temps, d'isoler les souches d'*E. coli* depuis le sac vitellin des poussins d'un jour ainsi que des œufs embryonnés, puis, dans un deuxième temps, étudier leur sensibilité vis-à-vis de quelques molécules antibiotiques.

Pour ce faire, un plan classique est suivi : après une synthèse bibliographique qui portera respectivement sur la bactériologie générale d'*E. coli*, les infections à *E. coli* dans l'espèce aviaire, les antibiotiques les plus fréquemment utilisés vis-à-vis de ces affections et les antibiorésistances que cela peut induire, une deuxième partie abordera l'étude expérimentale, conclue par quelques recommandations.

I. Bactériologie générale

I.1. Introduction

E. coli fait partie de la microflore commensale intestinale de l'homme et des animaux à sang chaud. Son établissement dans le tractus digestif s'effectue durant les premières heures ou journées qui suivent la naissance. *E. coli* constitue alors, tout au long de la vie de l'hôte, l'espèce bactérienne dominante de la flore aérobie intestinale (Grimont, 1987).

Elle est sans doute l'organisme vivant le plus étudié à ce jour. La profusion de publications scientifiques qui la mentionnent en témoigne (Joly et Reynaud, 2003).

I.2. Historique

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

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

I.3. Classification

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

I.4. Caractères bactériologiques

I.4.1. Souches typiques d'*Escherichia coli*

I.4.1.1. Morphologie et culture

Escherichia coli est un bacille Gram négatif, uniformément coloré, non sporulé. Sa taille (2-3 x 0,6 μ m) et sa forme peuvent varier et de nombreuses souches possédant des flagelles péritriches sont

mobiles. *E. coli* pousse sur milieu ordinaire à des températures comprises entre 18 et 44°C, voire moins. Incubées 24 heures sur gélose agar à 37°C, les colonies sont convexes, lisses et incolores. Elles ont en général un diamètre compris entre 1 et 3 mm, avec une structure granulaire et une marge intacte (Gross, 1991).

I.4.1.2. Caractères biochimiques

Au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*, *E. coli* est identifié en pratique courante par les caractères suivant : indole+, uréase-, H₂S-, TDA-, VP- et LDC+. Elle possède une catalase mais elle est dépourvue d'oxydase. Les principaux caractères biochimiques permettant l'identification de cette bactérie, ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille, sont regroupés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Caractères biochimiques d'*E. coli* (Avril *et al.*, 2009)

Test	ADH	ONPG	CC	GEL	H ₂ S	IND	MAL	PDA	LDC
Résultat	±	+	+	-	-	+	+	-	±
Test	ODC	TDA	URE	NIT	GLU	LAC	VP	ESC	
Résultat	+	+	+	±	-	+	+	-	

+ = Caractère positif ; - = Caractère négatif ; ± = Caractère inconstant

ADH : arginine déshydrogénase ; ONPG : ortho-nitro-phénol-βD-galactopyranosidase ; CC : citrate de Christensen ; GEL : gélatinase ; H₂S : hydrogène sulfuré ; IND : indole ; MAL : malonate ; PDA : phénylalanine désaminase ; LDC : lysine décarboxylase ; ODC : ornithine décarboxylase ; TDA : tryptophane désaminase ; URE : uréase ; NIT : nitrate réductase ; GLU : glucose ; LAC : lactose ; VP : réaction de Voges-Proskauer ; ESC : hydrolyse de l'esculine.

I.4.2. Souches atypiques d'*Escherichia coli*

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

I.5. Propriétés antigéniques

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

I.5.1. Les antigènes somatiques O

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

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

I.5.2. Les antigènes flagellaires H

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

Leur identification est souvent délicate en raison de leur fragilité et de la faible ou non-mobilité de la plupart des souches lors de leur isolement, et sont classées alors NM ou H- (Gherbu, 1988 ; Grimont, 1987 ; Orskov et Orskov, 1992). 56 antigènes H ont été identifiés en utilisant des méthodes d'agglutination en milieu liquide ou immobilisation en gélose-mobilité (Gherbu, 1988 ; Orskov et Orskov, 1992).

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

I.5.3. Les antigènes capsulaires K

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

99 spécificités K sont reconnues, dont la spécificité K1 (*E. coli* K1 responsable de méningite néonatale) (Levine, 1984) et la spécificité K12 (souche K12 utilisée en génétique bactérienne) sont les plus connues.

I.5.4. Les antigènes de surface F

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

Ces antigènes protéiques sont codés soit par le chromosome, organisés sous forme d'opérons (antigène F1, Antigène F7...), soit par un plasmide (F2, F3...).

Les facteurs environnementaux de la bactérie tels que le pH et l'osmolarité régulent fortement leur expression (Darfeuille-Michaud *et al.*, 1990 ; Schwann *et al.*, 2002).

I.6. Habitat, pouvoir pathogène naturel et facteurs de pathogénicité

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

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

I.6.1. Chez l'homme

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

I.6.1.1. *E. coli* entéropathogènes (ECEP)

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

I.6.1.2. *E. coli* entérotoxigènes (ECET)

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

I.6.1.3. *E. coli* entéroinvasifs (ECEI)

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

I.6.1.4. *E. coli* entérohémorragiques (ECEH)

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

I.6.1.5. *E. coli* entéroagrégatifs (ECEAg)

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

I.6.1.6. *E. coli* à adhésion diffuse (ECAD)

D'abord classés parmi les EPEC, ces *E. coli* ont été individualisés en raison de leur phénotype d'adhésion particulier (Giron *et al.*, 1991). Il semblerait que seules certaines tranches d'âge parmi la population pédiatrique (48-60 mois) développent des diarrhées dues à ces souches (Levine *et al.*, 1993).

Les *E. coli* à l'origine de pathologies extra-intestinales (ExPEC) ont acquis la capacité de dépasser les défenses immunitaires de leur hôte, et à se propager dans l'organisme. Ils peuvent induire chez leurs hôtes des infections du tractus urinaire (ITU) : on parle alors d'UPEC (urinary pathogenic *E. coli*) ; des méningites néonatales : NMEC (neonatal meningitis *E. coli*) ; ou des septicémies (Mokadyet *et al.*, 2005). Ils posent problème autant en médecine humaine, notamment à cause des multiples résistances acquises portées le plus souvent par des plasmides, qu'en médecine animale du fait des fortes pertes économiques induites, notamment en filière avicole.

I.6.2. Chez les animaux

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

I.6.2.1. ETEC

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

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

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

I.6.2.2. STEC

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

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

Chez le chien : Les STEC sont présents dans les fèces des chiens diarrhéiques et sains (Hammermueller *et al.*, 1995 ; Beutin, 1999). Ils provoquent occasionnellement le SHU chez le chiot.

Chez le porc : Le sérotype le plus souvent isolé lors de maladie de l'œdème est O₁₃K₈₁H₁₄. C'est une toxémie due à Stx2e se traduisant par des œdèmes sévères dans des endroits spécifiques. L'injection de Stx2e à faible dose (3 nanogrammes/kg de poids vif) provoque des symptômes et lésions de la maladie de l'œdème (Macleod *et al.*, 1991).

I.6.2.3. EPEC

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

Chez le porc : Les EPEC sont associés à la diarrhée de post-sevrage (Zhu *et al.*, 1994, 1995), et appartiennent souvent aux sérotypes O₄₅ et O₁₀₃ au Canada (Gyles et Fairbrother, 2010).

Chez le chien : EPEC sont les plus communément associés aux diarrhées chez le chien (Beutin, 1999 ; Goffaux *et al.*, 2000). Ils sont aussi isolés chez le chat (Goffaux *et al.*, 2000). Ils appartiennent à des sérogroupes hétérogènes, O₄₅, O₄₉H₁₀, O₁₁₅, O₁₁₈ (Beutin, 1999).

Chez le lapin : Le lapin est particulièrement sensible. Les EPEC sont les principaux agents infectieux dans les diarrhées du lapin, causant 25 à 40% de pertes (Gyles et Fairbrother, 2010). Les sérotypes O₂H₇, O₁₅ et O₁₀₃H₂ sont présents de manière significative lors de maladie chez les lapins sevrés et non sevrés (Milon *et al.*, 1999).

I.6.2.4. ExPEC

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

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

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

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

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

Maladie	Pathovar	Facteurs de virulence	Sérogroupe O
Colisepticémie	APEC	F1 (type 1), F11 (fimbriae de la famille P), sit, stg, K1, aérobactine, salmocheline, tsh	1, 2, 8, 15, 18, 35, 78, 88, 109, 115
Cellulite	APEC	Fimbriae de type 1 et P, K1	2, 25, 71, 78

II. Les infections à *Escherichia coli*

II.1.Introduction

Les *Escherichia coli* sont des hôtes commensaux du tractus digestif de la volaille et la pluparts des souches ne sont pas pathogènes. Cependant, la colibacillose associée aux souches d'*E. coli* pathogènes aviaires (APEC) est une maladie qui affecte le plus souvent les poulets de chair, et engendre des manifestations cliniques et des lésions qui peuvent être variables suivant l'âge de l'animal (Stordeur et Mainil, 2002).

II.2.Historique

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

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

La première description de la colisepticémie est publiée en 1907. En 1923, une infection est décrite par Palmer (1923), où des oiseaux somnolents, asthéniques et paralytiques, présentent une entérite infectieuse, où *E. coli* est isolé.

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

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

II.3.Définition

La colibacillose fait référence à n'importe quelle infection localisée ou généralisée, causée entièrement ou partiellement par les souches APEC (avian pathogenic *Escherichia coli*) (Barnes *et al.*, 2003).

II.4.Importance économique et sanitaire

Mondialement, la colibacillose est considérée comme la cause primaire des pertes économiques en production avicole (Zanella *et al.*, 2000).

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

Le poulet est susceptible d'être colonisé par *E. coli* O₁₅₇H₇ produisant la shigatoxine qui provoque l'entérite hémorragique chez l'homme. Des infections naturelles sont signalées chez le poulet et la dinde dans différentes zones géographiques (Guo *et al.*, 1998 ; Heuvelink *et al.*, 1999 ; Pilipciniec *et al.*, 1999).

II.5.Étiologie

L'agent étiologique de la colibacillose est la bactérie *Escherichia coli* (*E. coli*), qui fait partie des pathovars APEC (avian pathogenic *Escherichia coli*), proche génétiquement des ExPEC (extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*).

Il s'agit d'une bactérie de 2,5 µ de long et 0,6 µ de large, Gram-, non sporulée, de la famille des *Enterobacteriaceae*. Cette bactérie est le plus souvent mobile (Villate, 2001 ; Gyles et Fairbrother, 2004 ; Guérin et Boissieu, 2008).

II.6.Classification

Les premières études menées sur les colibacilles aviaires par Sojka et Garnaghan (1961) montrent qu'il existe une variation selon les régions géographiques, mais les sérotypes les plus fréquemment associés à la colibacillose sont O₁, O₂, O₃₅ et O₇₈. Plus récemment, des études menées sur 112 souches d'*E. coli* isolées de cas de colibacillose au Canada par Dozois *et al.* (1992) montrent que 16 sérogroupes sont représentés, parmi lesquels les sérogroupes O₇₈ (52%) et O₁ (6%) sont les plus fréquemment rencontrés et les plus pathogènes.

Les dernières études réalisées montrent que les plus présents et les plus pathogènes sont les sérotypes O₁, O₂ et O₇₈, représentant 15 à 61% des souches isolées, bien que d'autres soient aussi présents. Les autres sérotypes représentés significativement sont O₈, O₁₅, O₁₈, O₃₅, O₈₈, O₁₀₉, O₁₁₅ et O₁₁₆ (Bree *et al.*, 1989 ; Dho-Moulin *et al.*, 1990 ; Babai *et al.*, 1997 ; Blanco *et al.*, 1998 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999 ; Guérin et Boissieu, 2008).

II.7.Épidémiologie

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

II.7.1. Facteurs prédisposants

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

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

Sexe : Il semblerait que les mâles soient plus susceptibles à la maladie que les femelles. Selon une expérimentation faite sur des dindes âgées de 5 semaines, et après immunosuppression par deux doses de dexaméthasone et l'inoculation à travers les sacs aériens de 1.000 UFC d'*E. coli*, la mortalité, le score lésionnel et le taux d'*E. coli* dans le sang sont significativement plus élevés chez les mâles que chez les femelles (Huff *et al.*, 1999).

II.7.2. Facteurs favorisants

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

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

II.7.3. Facteurs de virulence

Il est de plus en plus admis que la position de certains gènes chromosomiques ou plasmidiques codant les facteurs de virulence confèrent aux souches APEC une pathogénicité propre due à leur

capacité de survie dans l'hôte (Stordeur et Mainil, 2002 ; Stordeur *et al.*, 2003 ; Guérin et Boissieu, 2008 ; Robineau et Moalic, 2010).

II.7.3.1. Adhésines

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

II.7.3.1.1. Fimbriae de type 1

Les fimbriae de type 1 sont constitués d'une protéine majeure fimA, associée à d'autres protéines auxiliaires (fimF et fimG) et d'une adhésine fimH. Les fimbriae de type 1 sont principalement exprimés par les bactéries qui colonisent la trachée, les poumons et les sacs aériens, mais pas par celles qui colonisent les tissus plus profonds ou le sang car elles sont rapidement tuées par les macrophages (Dozois *et al.*, 1994 ; Pourbakhsh *et al.*, 1997). Plusieurs variants de fimbriae de type 1 existent chez les APEC et semblent associés aux sérotypes des souches pathogènes (Dozois *et al.*, 1995).

II.7.3.1.2. Fimbriae de type P

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

II.7.3.1.3. Autres adhésines

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

II.7.3.2. Résistance au sérum (pouvoir bactéricide du complément) et à la phagocytose

La résistance au sérum et à la phagocytose est bien élucidée pour jouer un rôle important dans la virulence et le développement de la septicémie (Vidotto *et al.*, 1990 ; Nolan *et al.*, 1992a, 2003 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).

Les gènes *TraT* et *Iss* codent pour les protéines de la membrane externe, et leur rôle dans la résistance au sérum est confirmée par mutagenèse (Sukupolvi *et al.*, 1987 ; Wooley *et al.*, 1993). Le gène *Iss* est fréquemment plus présent dans les isolats d'oiseaux atteints de colibacillose que dans les isolats fécaux d'oiseaux sains (Pfaff-McDonough *et al.*, 2000 ; Nolan *et al.*, 2003 ; McPeake *et al.*, 2005 ; Rodriguez-Siek *et al.*, 2005).

La protéine TraT agit comme un inhibiteur de la phagocytose en entravant la déposition du C3 (Agüero *et al.*, 1984). En plus de TraT et Iss, une protéine de 16,2 kDa, connue pour servir de médiateur de la résistance au complément, a été identifiée (Nolan *et al.*, 1992b).

Des études récentes ont confirmé le rôle de la capsule K1 et des fimbriae F1 et P aussi bien que les lipopolysaccharides O₁, O₂, et O₇₈ dans la résistance aux effets du sérum et à la phagocytose (Pourbakhsh *et al.*, 1997a ; Mellata *et al.*, 2003a et 2003b).

II.7.3.3. Aéro bactéine

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

L'acquisition du fer est importante dans la virulence des souches APEC. Cela est illustré par la présence des gènes codant pour quatre systèmes d'acquisition du fer (aéro bactéine, Sit ABC, salmocheline, et Tsh) dans le plasmide de la virulence de la souche O₇₈K₈₀ APEC-1 (Johnson *et al.*, 2006 ; Mellata *et al.*, 2009).

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

II.7.4. Toxines

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

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

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

II.7.5. Hémagglutination

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

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

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

II.7.6. Gènes régulateurs de virulence

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

De plus, un système spécifique de transport du phosphate est aussi lié à la virulence des souches APEC X7122 (Lamarche *et al.*, 2005).

II.8.Pathogénie

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

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

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

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

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

II.9.Les infections à *E. coli*

Il existe plusieurs formes de la maladie : des formes localisées, une forme septicémique aiguë et des formes chroniques (Barnes *et al.*, 2003).

II.9.1. Omphalite / inflammation du sac vitellin

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

La contamination de l'œuf, et plus précisément de la membrane vitelline, se fait essentiellement lors de la ponte. Les souches *E. coli*, alors présentes dans les matières fécales de la poule, viennent se déposer à la surface de l'œuf lors du passage de celui-ci par le cloaque. Ensuite, elles pénètrent à travers les membranes coquillères et vont contaminer la membrane vitelline. La possibilité de contamination des œufs à partir de lésions de salpingite ou d'ovarite existe mais reste peu fréquente (Gross, 1994).

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 (Jordon et Pattisson, 1996 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).

Les mortalités embryonnaires sont constatées un peu avant l'éclosion : les œufs contaminés présentent une coquille de moindre qualité, sont chauds et leur surface est mouillée.

Les mortalités se poursuivent encore après l'éclosion et ce pendant une période de 3 semaines. L'ombilic est œdémateux et enflammé, avec présence de croûtes ; le sac vitellin est mal résorbé, avec une paroi opacifiée et congestionnée, et un contenu marron jaune, de consistance aqueuse à grumeleuse (Guérin et Boissieu, 2008).

II.9.2. Colibacillose respiratoire

Elle est l'expression principale de la colibacillose et affecte particulièrement les élevages de poulets de chair, avec un taux de mortalité pouvant atteindre dans certains cas 30 à 50%. Elle est essentiellement présente chez les animaux de 2 à 12 semaines, avec une fréquence maximale entre 4 et 9 semaines (Gross, 1994 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).

Les pertes sont le plus souvent d'ordre économique, avec un taux de morbidité pouvant dépasser 50%, une réduction significative de la croissance des animaux, une augmentation de l'indice de consommation et des saisies à l'abattoir (Yogaratnam, 1995 ; Elfadil *et al.*, 1996).

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 et ammoniac) (Nakamura *et al.*, 1992 ; Gyles et Fairbrother, 2010).

II.9.2.1. Sur le plan clinique

En premier lieu, survient une chute importante de la consommation alimentaire. Ensuite, de l'abattement accompagné d'hyperthermie (42 à 44°C). Les animaux les plus atteints présentent alors des signes de détresse respiratoire : bec ouvert, respiration accélérée et irrégulière, râles, toux, éternuements, jetage, larmolement et sinusite.

II.9.2.2. Sur le plan lésionnel

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

Cœur : péricardite. Le péricarde prend un aspect opaque et œdémateux, et se remplit d'un exsudat fibrineux.

Sacs aériens : aérosacculite. Les sacs perdent leur transparence, s'épaississent et présentent un aspect congestif.

Foie et rate : les lésions sont surtout localisées en périphérie de ceux-ci, et sont caractérisées par de la congestion, un épaississement du tissu et un dépôt de fibrine. Ce dépôt est parfois tellement important que la surface de l'organe prend l'aspect d'une crêpe (Jordan et Pattisson, 1996).

II.9.2.3. Sur le plan microscopique

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

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

II.9.3. Colisepticémie

La colisepticémie est la forme septicémique de la colibacillose, provoquée par l'invasion colibacillaire des jeunes oiseaux (Villate, 2001).

Elle est caractérisée par la présence d'*E. coli* dans le courant sanguin. La virulence de la souche et l'efficacité des moyens de défense de l'hôte détermine la durée, le degré et l'issue de la maladie, ainsi que le type et la sévérité des lésions (Pourbakhsh *et al.*, 1997a et 1997b).

II.9.3.1. Sur le plan clinique

Elle se traduit par des mortalités, après abattement, anorexie, due souvent à une complication de la colibacillose respiratoire, omphalite ou synovite (Villate, 2001 ; Guérin et Boissieu, 2008).

II.9.3.2. Sur le plan lésionnel

Les lésions de la forme aiguë sont non exsudatives :

Foie : hypertrophie, de coloration intense, parfois verdâtre, avec quelques zones de dégénérescence.

Rate : hypertrophie, avec des points de nécrose.

Reins : néphrite, dépôt d'urates.

Intestin : ampoule cloacale distendue par des gaz et des matières liquides blanchâtres.

Légère ascite : aspect brillant des viscères par le liquide abdominal inflammatoire (Villate, 2001 ; Guérin et Boissieu, 2008).

II.9.4. 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 responsable de pertes économiques substantielles, notamment à l'abattoir (carcasse saisie) (Guérin et Boissieu, 2008).

Dans ce type de lésions, *E. coli* est toujours la bactérie qui prédomine. O₇₈K₈₀ est le sérotype le plus fréquemment impliqué, ainsi que les sérotypes O₁ et O₂ qui sont parmi les organismes les plus régulièrement isolés des lésions sub-cutanées (La Ragione et Woodward, 2002).

Par ailleurs, de telles lésions ont pu être reproduites par inoculation des follicules plumifères à l'aide de souches de sérotype O₇₈ (Gulner, 1990).

II.9.5. Arthrites et synovites

Les colibacilles peuvent surinfecter des maladies primitives (arthrite à réovirus, synovite à *Mycoplasma synoviae*) ou être inoculés par des blessures ou traumatismes (Villate, 2001).

Après avoir été affectés par la colisepticémie, les oiseaux semblent ne pas pouvoir éliminer complètement la bactérie, permettant ainsi la localisation d'*E. coli* dans les articulations et les synoviales. Un grand pourcentage des dindons développent ces lésions après traitement avec la dexaméthasone ou par inoculation d'*E. coli* dans les sacs aériens (Huff *et al.*, 2000).

II.9.6. Entérite

E. coli a été isolée chez les volailles lors d'entérite mais les recherches ne sont pas suffisantes pour indiquer qu'il s'agit de l'étiologie. L'infection du tractus digestif par *E. coli* est habituellement secondaire à d'autres affections, du type coccidiose, entérite nécrotique, histomonose, parasitisme (vers ou champignons), ou suite à des circonstances débilitantes telles la malnutrition (Pakpinyo *et al.*, 2002). Les lésions observées correspondent à une inflammation sévère de l'intestin, de larges plaques épaissies et œdémateuses contenant du sang et du mucus. Les poulets atteints présentent une diarrhée, différents degrés de déshydratation et une baisse rapide de l'état général (Bains, 1979).

II.9.7. Maladie de Hjärre

La coligranulomatose, ou maladie de Hjärre, est une maladie touchant l'adulte, à mortalité sporadique mais pouvant atteindre 75% dans certains lots. Des granulomes apparaissent dans le foie,

le caecum, le duodénum et le mésentère, avec très peu de symptômes. La rupture des granulomes est à l'origine d'une mort subite (Gross, 1991).

II.9.8. Ovarite et salpingite chronique chez l'adulte

Les formes génitales observées chez les poulettes de 4 à 13 semaines ou chez les adultes accompagnent ou non les manifestations respiratoires et se traduisent par des chutes de ponte survenant en particulier au 2-3^{ème} mois de ponte, des morts subites (2 à 3% par mois) et des diarrhées blanches. L'autopsie révèle des lésions d'ovaro-salpingite et de péritonite (Gross, 1991 ; Lecoanet, 1992).

II.10. Diagnostic

II.10.1. Clinique et nécropsique

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

II.10.2. Diagnostic différentiel

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

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

Lésion	Agents pathogènes incriminés
Aérosacculite	<i>Mycoplasma</i> spp, <i>Chlamydophila</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.
Septicémie aiguë	<i>Pasteurella</i> spp, <i>Salmonella</i> spp, <i>Streptococcus</i> spp, <i>Streptobacillus moniliformis</i>
Synovite	Infection virale (réovirus) ou à <i>Mycoplasma synoviae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella</i> spp.
Granulomes	Infection virale (maladie de Marek) ou bactérienne (<i>Mycobacterium avium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Bacteroides</i>)

II.10.3. Diagnostic de laboratoire

II.10.3.1. Isolement et identification

En présence de lésions évoquant la colibacillose, un isolement et une identification de l'agent responsable permettront de confirmer la maladie. Les prélèvements sontensemencés en milieux appropriés (bleu d'éosine méthylène ou EMB, Mac Conkey agar ou Drigalski agar).

Un diagnostic présomptif d'infection par *E. coli* peut être fait si la plupart des colonies apparaissent sombres, avec des reflets métalliques, sur gélose EMB, ou rose vif, avec un précipité, sur gélose Mac Conkey. Les colibacilles sont ensuite mis en évidence par croissance sur galerie biochimique miniaturisée qui donne les caractéristiques biochimiques de l'agent isolé (Dho-Moulin et Fairbrother, 1999).

L'isolement d'une souche d'*E. coli* à partir d'une lésion pose toujours le problème de son identification comme pathogène ou non pathogène. *E. coli* étant un hôte habituel du tube digestif des volailles, l'isolement d'une souche non pathogène ne peut pas être totalement exclu. Il est donc nécessaire de compléter la caractérisation des souches potentiellement pathogènes par le sérotypage et le criblage des gènes codant pour les facteurs de virulence, avec des techniques de biologie moléculaire. Par ailleurs, des lésions similaires à celles de la colibacillose peuvent aussi être causées par d'autres bactéries.

II.10.3.2. Caractérisation des souches pathogènes

Le sérotypage est, actuellement, la méthode la plus utilisée dans les laboratoires de diagnostic. Elle permet de caractériser les souches sur la base des antigènes de surface qu'elles possèdent. Les

antigènes somatiques des sérogroupes O₁, O₂ et O₇₈ sont présents sur les souches isolées de prélèvements pathologiques dans environ 60% des cas. Les problèmes rencontrés en diagnostic proviennent ainsi de la difficulté à identifier comme pathogènes ou non pathogènes les 40% de souches qui n'appartiennent pas à ces 3 sérogroupes majoritaires.

Des tests sur animaux (par exemple le test de létalité sur poussins d'un jour) permettent aussi de confirmer que certaines de ces souches sont effectivement pathogènes, mais ce type de test, s'il apporte des précisions appréciables, reste trop lourd à mettre en œuvre pour un diagnostic de routine.

II.11. Traitement

Il repose essentiellement sur l'antibiothérapie. Les antibiotiques utilisés sont ceux actifs contre les bactéries à 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 (Villate, 2001). Leur choix est aussi guidé par la forme de colibacillose :

- **Forme respiratoire** : étant donné la fréquence de l'association colibacilles-mycoplasmes, il est souvent utile d'opter pour une association macrolide-aminoside, telle que streptomycine-spiramycine ou streptomycine-tylosine (Brugère-Picoux, 1984). Les aminosides et polypeptides peuvent aider à la maîtrise de colibacilles pathogènes respiratoires (Vilatte, 2001).

- **Forme septicémique** : dans cette forme, l'antibiotique doit être actif par élimination tissulaire et présenter une bonne absorption intestinale afin de pouvoir diffuser dans tout l'organisme. C'est le cas des nitrofuranes (interdits) et de l'association triméthoprim-sulfamides (Borne, 1998 ; Vilatte, 2001).

- **Forme digestive** : l'indication portera sur les antibiotiques actifs *per os* et ne traversant pas la paroi intestinale, ce qui permet leur concentration dans le tube digestif, comme les aminosides (gentamycine, streptomycine) et les polypeptides (colistine) (Mogenet et Fedida, 2004).

II.12. Prophylaxie

II.12.1. Sanitaire

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

- Contrôler les contaminations des œufs par fumigation dans les deux heures qui suivent la ponte, en les récoltant le plus vite possible après la ponte et en écartant ceux en mauvais état ou présentant des souillures fécales à leur surface (Gross, 1994).
- En garantissant des animaux indemnes de mycoplasmes et en contrôlant certains facteurs environnementaux comme l'humidité, la ventilation, la teneur en poussières et en ammoniac de l'air, les infections du tractus respiratoire peuvent être réduites (Villate, 2001).
- Séparation des animaux par classe d'âge et par espèce, nettoyage, désinfection et vide sanitaire entre chaque lot sont aussi des mesures de prévention indispensables dans le cadre de la lutte contre la colibacillose (Jordan et Pattison, 1996 ; Villate, 2001).

II.12.2. Médicale

Même si un certain nombre d'essais vaccinaux ont été effectués à l'aide de souches atténuées en modèles expérimentaux et couronnés de succès, avec des souches homologues, ils n'en restent pas moins inefficaces envers des infections avec des souches hétérologues de terrain (Dho-Moulin et Fairbrother, 1999). En dehors des vaccins expérimentaux, aucun vaccin efficace n'est disponible sur le marché vétérinaire.

Une antibio-prévention réfléchie et adaptée peut être utile (Villate, 2001).

II.13. Conclusion

Les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC) restent encore responsables, à l'heure actuelle, de pertes économiques majeures dans les élevages du poulet, en plus de l'incidence croissante des résistances et le risque potentiel de transfert à l'homme. Les recherches actuelles, permettant de définir les facteurs de virulence communs au plus grand nombre de souches APEC, de les caractériser et de comprendre leurs mécanismes de fonctionnement, devraient permettre, dans un avenir proche, de définir des tests de diagnostic et d'améliorer la prophylaxie de cette maladie.

III. Antibiotiques et antibiorésistance

III.1. Introduction

Les pathologies infectieuses bactériennes entraînaient souvent la mort : la peste au moyen-âge en est un exemple. Avec la découverte des sulfamides et, plus tard, de la pénicilline, on est passé à l'ère antibiotique qui représente une véritable révolution dans le domaine de la médecine et des maladies infectieuses, permettant ainsi de sauver un grand nombre de vies, à croire que les maladies infectieuses seraient un jour toutes jugulées (Alami *et al.*, 2005 ; Abdennebi, 2006).

III.2. Historique

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

En 1929, Fleming découvre un *Pénicillium* sur une boîte de Pétri. Il met en évidence l'inhibition du staphylocoque doré par cette culture de *Pénicillium*. En 1942, Chain obtient une forme stable et utilisable *in vivo* (essais sur 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.

III.3. Définition

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

III.4. Caractéristiques

III.4.1. Toxicité sélective

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

- Pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne ;
- Ne pas être inactivé ;
- Être capable de se lier à sa cible.

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

III.4.2. Spectre d'activité

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

Les espèces constamment résistantes possèdent ce qu'on appelle une résistance naturelle.

Lorsque, dans une espèce jusque-là sensible à un antibiotique, des souches résistantes apparaissent, on utilise le terme de résistance acquise (Alami *et al.*, 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.5. Activité antibactérienne

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

III.5.1. La bactériostase (effet bactériostatique)

C'est l'inhibition ou le ralentissement temporaire de la croissance bactérienne par l'ATB.

L'effet est réversible : dès l'arrêt de l'antibiothérapie, la croissance des micro-organismes reprend (Helali, 2002 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.5.2. La bactéricidie (effet bactéricide)

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

III.6. Classification

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

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

III.7. Mode d'action des principales familles d'antibiotiques

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

On distingue quatre grands modes d'action :

- 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).

III.7.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane (paroi)

Le peptidoglycane est un polymère réticulé fait de chaînes polysaccharidiques reliées par des peptides. Cette molécule n'existe que chez les bactéries et assure la rigidité de la paroi. Les précurseurs de peptidoglycane sont synthétisés dans le cytoplasme et assemblés à l'extérieur de la membrane cytoplasmique (Neal, 2007 ; Nauciel et Vildé, 2008).

Lorsque les bactéries sont en phase de croissance, il existe simultanément des phénomènes de synthèse et de destruction du peptidoglycane. L'équilibre entre ces deux phénomènes est rompu par les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane. Il en résulte une altération de la paroi ayant un effet létal pour la bactérie (Neal, 2007 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.7.1.1. β -Lactamines

Il existe de nombreuses variétés de β -Lactamines qui se distinguent par leur spectre d'activité et leurs propriétés pharmacologiques : pénicillines, céphalosporines et autres.

Elles ont en commun un noyau β -Lactame présentant une analogie structurale avec la terminaison D-ala-D-ala du précurseur du peptidoglycane. Elles se fixent de manière covalente sur des protéines membranaires appelées protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Ces protéines sont des enzymes impliquées dans la phase finale de la synthèse du peptidoglycane, c'est-à-dire l'étape de polymérisation à partir de sous-unités faites d'un disaccharide-peptide.

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

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

III.7.1.2. Glycopéptides

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

III.7.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

Plusieurs familles d'antibiotiques peuvent inhiber, par différents mécanismes, l'élongation de la chaîne polypeptidique chez les bactéries ; cependant, la grande majorité des ces antibiotiques est bactériostatique, à l'exception des aminosides qui sont bactéricides (Page *et al.*, 1999 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.7.2.1. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome

III.7.2.1.1. Aminosides

Le premier antibiotique de cette famille est la streptomycine. Les plus employés actuellement sont la gentamycine et la nétilmicine.

Ces antibiotiques se distinguent par leur capacité à résister aux différentes enzymes pouvant les inactiver. Ils peuvent être toxiques pour les fonctions auditives ou vestibulaires, et pour les fonctions rénales (Nauciel et Vildé, 2008).

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

III.7.2.1.2. Tétracyclines

Elles sont éliminées par voie biliaire et urinaire, et restent actives sur certaines bactéries à développement intracellulaire comme les brucelles, *Chlamydia*, *Mycoplasma* et *Rickettsia* (Nauciel et Vildé, 2008).

Elles inhibent la synthèse protéique en se liant de façon réversible à la sous-unité 30S du ribosome. Cette fixation inhibe celle de l'aminocyl-ARNt et bloque l'étape de reconnaissance de la phase d'élongation de la chaîne peptidique (Moellering, 1995 ; Page *et al.*, 1999).

Les tétracyclines sont utilisées contre les maladies respiratoires chroniques, la colibacillose, la mycoplasmoses (Villate, 1997 ; Mogenet et Fedida, 2004).

III.7.3. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome

III.7.3.1. Chloramphénicol

Il est très actif pour le traitement de la fièvre typhoïde. En raison de sa toxicité (risque d'aplasie médullaire mortelle), il n'est plus commercialisé (Nauciel et Vildé, 2008).

Il perturbe la synthèse protéique en inhibant la peptidyl-transférase dans la sous-unité 50S. Il entraîne ainsi un blocage de l'élongation de la chaîne peptidique et donc du cheminement des ribosomes le long de l'ARNm. La libération du polypeptide synthétisé en fin de lecture de l'ARNm est également bloquée (Tortura *et al.*, 2003 ; Neal, 2007).

III.7.3.2. Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)

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

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

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

III.7.4. Antibiotiques inhibant le facteur d'élongation G

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

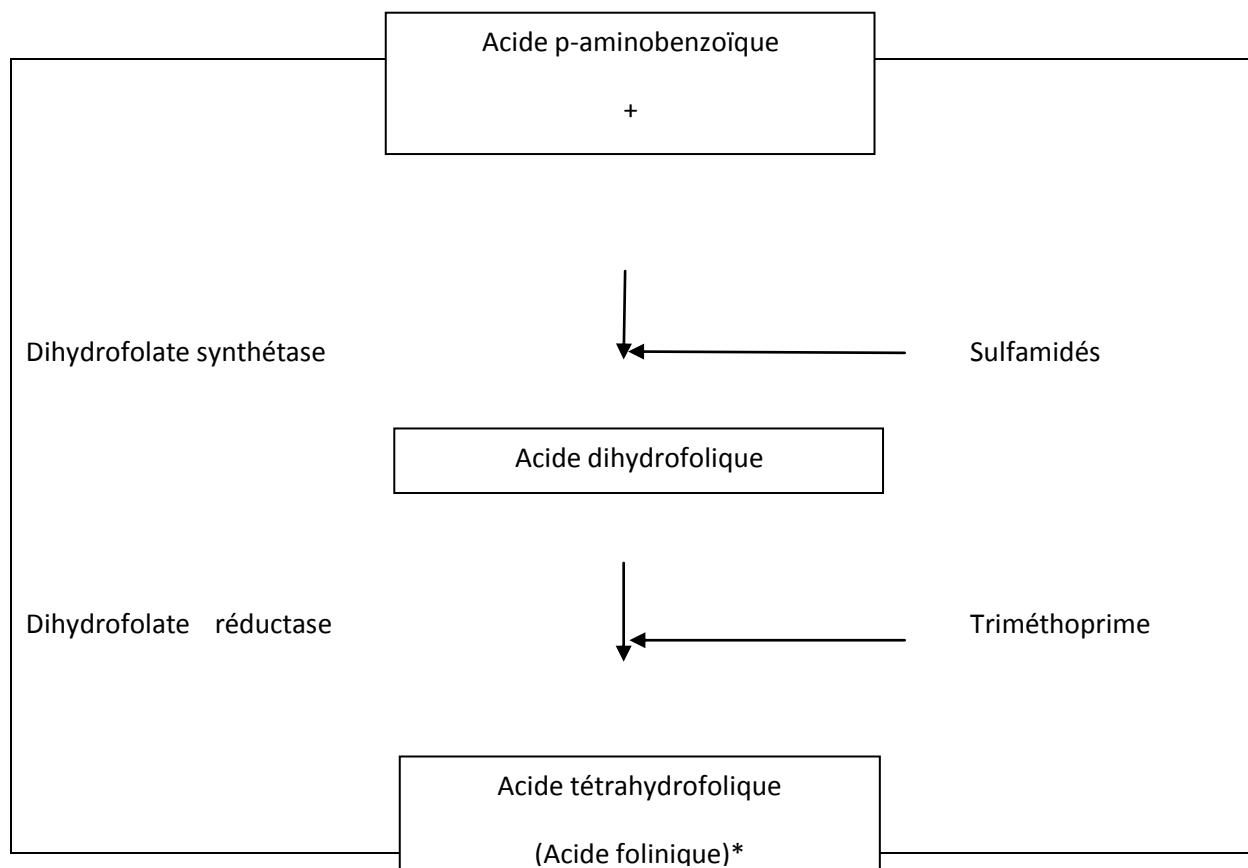
La synthèse protéique serait inhibée par la formation d'un complexe stable avec le facteur d'élongation diphosphate et le ribosome. La phase d'élongation est ainsi bloquée et, par voie de conséquence, la translocation est arrêtée (Tankovic et Duval, 1997).

III.7.5. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

III.7.5.1. Sulfamides et triméthoprine

Ce sont des analogues de l'acide para-amino-benzoïque. Ils inhibent la synthèse des folates en inhibant la dihydroptéroate synthétase (figure 1). Le triméthoprine est surtout utilisé en association avec un sulfamide, en agissant à un niveau différent de la synthèse des folates (figure 1), ce qui assure à l'association un effet synergique (Nauciel et Vildé, 2008).

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



*Cofacteur nécessaire à la synthèse des purines, de la thymidine et de quelques acides aminés

Figure 1 : Action des sulfamides sur les métabolismes intermédiaires (Lavigne, 2007)

III.7.5.2. Quinolones

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

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

III.7.5.3. Nitrofuranes et nitroimidazoles

Ils ont le même mode d'action, leur activité nécessitant la réduction du groupement NO₂. Cette dernière est effectuée au niveau du cytoplasme par des nitro-réductases des bactéries anaérobies et micro-aérophiles, libérant ainsi des radicaux libres toxiques capables d'oxyder l'ADN bactérien et de le couper (Alami *et al.*, 2005 ; Neal, 2007 ; Nauciel et Vildé, 2008)

III.7.5.4. Antibiotiques agissant sur les membranes (Polymyxines)

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

III.8. L'antibiorésistance

III.8.1. 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 à leurs vis-à-vis, et certains parlent déjà de possible ère post-antibiotique (Alami *et al.*, 2005).

III.8.2. Historique

Le phénomène de résistance est connu depuis l'apparition du premier antibiotique : En 1940, avant même que la pénicilline n'ait été largement utilisée en thérapeutique, Abraham et Chain attirent l'attention sur le fait que *Bacterium coli* inactive la pénicilline G grâce à un enzyme dénommé pénicillinase (Abraham et Chain, 1940).

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

III.8.3. Définition

Aujourd'hui, la définition de la résistance d'une bactérie est variable selon le point de vue : bactériologique, pharmacologique, clinique ou épidémiologique.

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

Selon Schwarz et Chalus-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 pharmacodynamique, pharmacocinétique et clinique (Abdennebi, 2006).

III.8.4. Les différents types de résistance

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise :

III.8.4.1. La résistance naturelle

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

III.8.4.2. La résistance acquise

Résistance qui apparaît chez des bactéries jusqu'alors sensibles à un antibiotique donné, elle résulte d'une modification du patrimoine génétique chromosomique ou plasmidique. Elle ne concerne que quelques souches au sein de l'espèce considérée mais peut s'étendre (Alami *et al.*, 2005 ; Courvalin, 2008 ; Lavigne, 2007).

III.8.5. Biochimie de la résistance

III.8.5.1. 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).

On peut citer les mutations dans l'ADN gyrase (topoisomérase de type II et topoisomérase IV) au niveau de la région appelée "quinolone resistance determining region" (QRDR) des gènes *gyrA* et *parC*, cibles des quinolones, et qui sont composées de 2 fois 2 sous-unités codées respectivement par les gènes *gyrA gyrB* et *parC parE*, qui confèrent la résistance aux fluoroquinolones (Boucheron *et al.*, 2003).

Il existe aussi une résistance aux 4-6-desoxystreptamines par méthylation de l'ARN 16S (Galimand *et al.*, 2005)

III.8.5.2. 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.8.6. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

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

III.8.6.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

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

III.8.6.1.1. β -lactamases

Les β -lactamases inactivent les β -Lactamines, par ouverture du noyau β -lactame. Elles sont excrétées dans l'espace périplasmique des bactéries à Gram négatif ou dans le milieu de culture des bactéries à Gram positif. On peut les classer suivant les β -Lactamines qu'elles hydrolysent de manière préférentielle, par exemple céphalosporinase (Poyart, 2003 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.8.6.1.2. Enzymes inactivant les aminosides, chloramphénicol et macrolides

On connaît 3 classes d'enzymes pouvant inactiver les aminosides : les acétyltransférases, les nucléotidyl-transférases et les phospho-transférases. Le chloramphénicol peut être inactivé par une chloramphénicol-acétyltransférase. Diverses enzymes peuvent aussi inactiver les macrolides (Nauciel et Vildé, 2008).

Le chloramphénicol et les aminosides sont inactivés dans le cytoplasme de la bactérie par des enzymes qui demeurent intracellulaires. Les gènes codant ces enzymes sont le plus souvent plasmidiques (Poyart, 2003).

III.8.6.2. 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).

La résistance par modification de PLP, par exemple, est due à la présence d'une PLP ayant une très faible affinité pour les β -Lactamines. Cette nouvelle PLP est due à l'acquisition d'un gène

chromosomique appelé *mecA* ou à l'acquisition de fragments d'ADN étrangers au niveau des gènes des PLP, donnant naissance à des gènes mosaïques (Nauciel et Vildé, 2008).

III.8.6.3. 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'ATB (Pages, 2004 ; Nauciel et Vildé, 2008).

Ces mutations peuvent entraîner la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques simultanément : β -Lactamines, aminosides et quinolones (Pages, 2004 ; Nauciel et Vildé, 2008).

III.8.6.4. Excrétion de l'antibiotique par efflux

Il existe chez les bactéries des systèmes permettant la non-accumulation de l'ATB à l'intérieur de la bactérie : c'est l'excrétion ou efflux actif (Alami, 2005). L'efflux actif est un mécanisme de transport membranaire, nécessitant de l'énergie, qui pompe l'antibiotique de l'intérieur vers l'extérieur, plus vite qu'il ne rentre. Les ATB exerçant leur action sur des cibles cytoplasmiques seront les plus touchés (Croize, 2005).

III.8.7. Mécanismes génétiques de la résistance

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

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

III.8.8. Conséquences de la résistance aux antibiotiques

On considère que, pour de nombreux agents pathogènes pour l'homme et l'animal, le développement de la résistance est dû à l'usage médical des antibiotiques (Sanders, 2005). C'est le résultat de la pression de sélection des antibiotiques. En effet, l'administration d'un antibiotique chez un individu entraîne la disparition des bactéries sensibles et favorisent de ce fait la prolifération des

bactéries ayant acquis une résistance (Nauciel et Vildé, 2008). Cette résistance a des conséquences médiate et immédiate :

- L'échec thérapeutique est la conséquence pratique majeure de l'antibiorésistance chez l'animal, due à la résistance des bactéries pathogènes (Sanders, 2005 ; Abdennebi, 2006).
- Diffusion de la résistance : chez les bactéries, les gènes de résistance sont transmis à la descendance par transmission verticale ou horizontale (Nauciel et Vildé, 2008). L'apparition de souches multirésistantes aux antibiotiques chez des bactéries pathogènes pour l'animal peut devenir un problème de santé publique, car elles peuvent ensuite être transmises à la population humaine (Sanders, 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008).
- Apparition de souches de bactéries transmises par les aliments et résistantes aux antimicrobiens et qui peuvent causer des infections au sein de groupes de populations sensibles (Abdennebi, 2006).

III.9. Conclusion

L'emploi intensif et anarchique des antibiotiques, tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire, est directement relié à l'augmentation des résistances et à la perte d'intérêt d'un grand nombre de molécules. Nous sommes au temps où une utilisation plus raisonnable de ces molécules, plus réfléchie et plus restreinte, est absolument nécessaire.

Pour cela, la connaissance des antibiotiques, de leur mode d'action, de leur spectre d'activité, des modes de résistance et des modes d'émergence de la résistance est un préalable à la bonne utilisation de ces molécules.

1. Objectifs

L'utilisation intensive et anarchique des antibiotiques par les éleveurs de poulets, ainsi que l'instauration de thérapies non fondées sur des études épidémiologiques préalables par les vétérinaires, ont pour conséquences l'apparition de souches d'*E. coli* multirésistantes.

Vu que *E. coli* est un germe qui menace la vie du poulet durant toute sa carrière, et sachant que la réussite d'un élevage de poulets nécessite un bon démarrage, surtout sur le plan sanitaire. Cela impose au vétérinaire praticien d'avoir à sa disposition un profil d'antibiorésistance d'*E. coli* susceptible de contaminer le poussin au démarrage, afin d'orienter sa thérapie durant la période d'élevage.

L'objectif de notre étude est d'évaluer, d'une part, la prévalence des souches APEC (avian pathogenic *E. coli*) chez les poussins et les œufs embryonnés contaminés dans le couvoir, et d'autre part d'étudier les profils de résistance à des antibiotiques recommandés pour cette espèce bactérienne.

2. Lieu et période de l'étude

L'étude s'étend sur une période de six mois, du 15 juin au 5 décembre 2014. Elle est menée dans la wilaya de Bouverd. Les prélèvements sont effectués dans le couvoir. L'origine des poussins et des œufs est l'exploitation de Bakhellal ainsi que des élevages de clients divers.

Les prélèvements, constitués de sacs vitellins et d'embryons, sont effectués en cabinet privé. Ils sont acheminés, dans une glacière à +4°C, au laboratoire régional de Draa Ben Khedda pour les examens bactériologiques.

3. Matériel et méthodes

3.1. Matériel

3.1.1. Échantillonnage et prélèvements

Les échantillons sont prélevés au hasard (10 sujets par bâtiment). Les poussins prélevés ont un ombilic non cicatrisé, et les embryons proviennent d'œufs non éclos.

Les prélèvements, au nombre de 59, sont faits dans des conditions aseptiques, ce qui a permis de recueillir 42 isolats d'*E. coli*.

3.1.2. Présentation des infrastructures

Le couvoir Bakhellal est situé à Taourga, daïra de Baghlia, dans la wilaya de Boumerdes. C'est un couvoir privé qui a une capacité de production de 50.000 poussins par semaine. Ce

dernier n'est pas agréé auprès des services vétérinaires officiels. L'origine des œufs incubés dans ce couvoir est : soit les bâtiments d'élevage de la coopérative Bakhellal, soit des clients divers.

Six parmi les élevages de la coopérative sont localisés à Taourga, et cinq autres bâtiments sont situés à Hassi Lefdoul, dans la wilaya de Tiaret.

3.1.3. Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés lors de l'étude sont les suivants (voir annexe) :

BHIB (brain heart infusion broth) (Institut Pasteur d'Algérie) est un milieu d'enrichissement pour les *E. coli*.

Mac Conkey (Biolab Algérie) est un milieu d'isolement des bactéries lactose +

Milieu TSI (Triple Sugar Iron) (Institut Pasteur d'Algérie) est un milieu d'identification biochimique.

Milieu Urée-indole (Institut Pasteur d'Algérie).

Milieu Mueller-Hinton (Institut Pasteur d'Algérie) est utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme.

Pour l'identification biochimique, la galerie Api 20^E (BioMérieux, France) est utilisée.

3.1.4. Produits de laboratoire

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

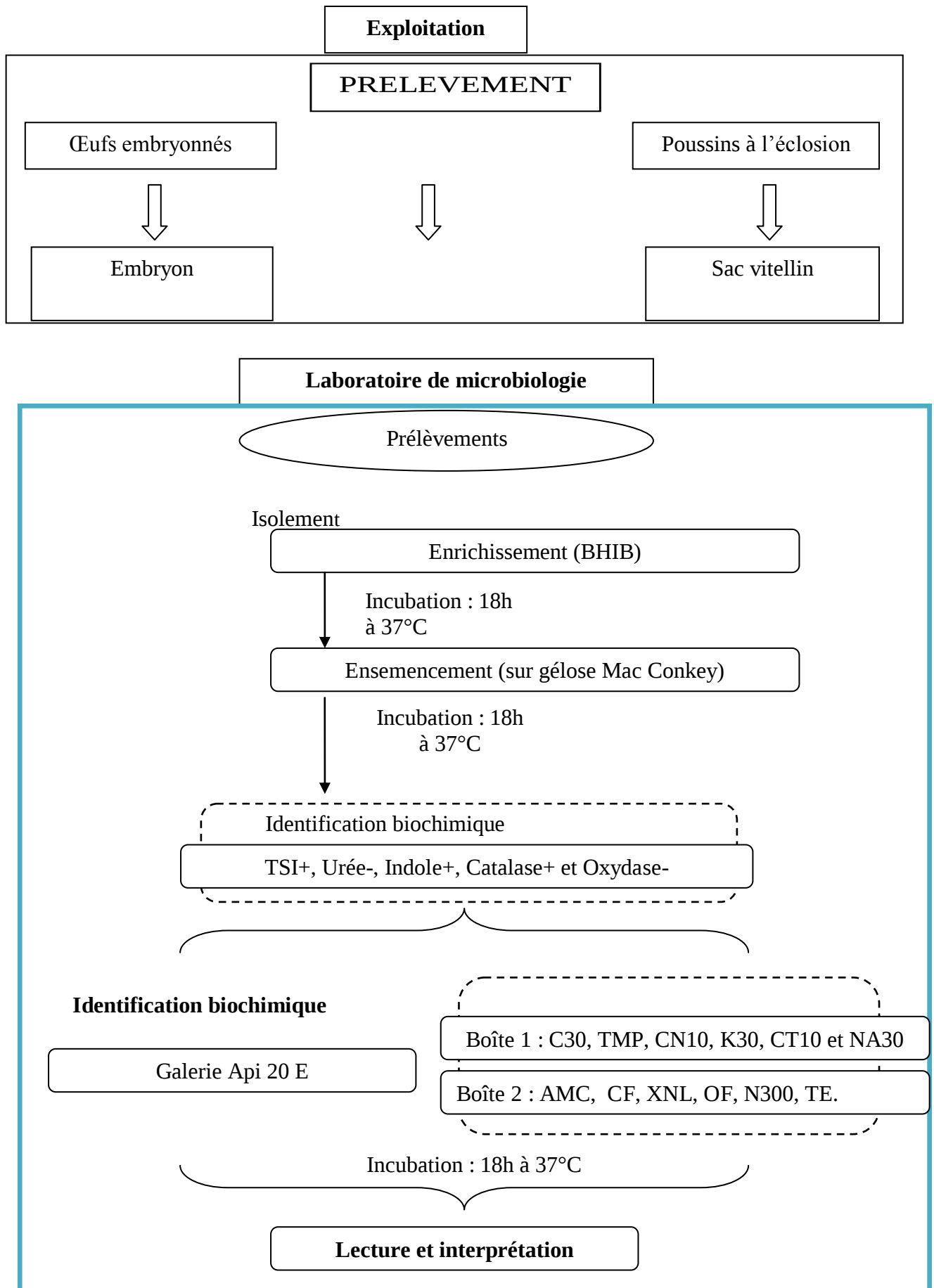
- Colorants : violet de gentiane, fuschine de Ziehl, lugol ;
- Eau oxygénée 10 volumes ;
- Alcool 70⁰ ;
- Eau physiologique 0,9% ;
- Huile de vaseline stérile (Institut Pasteur d'Algérie) ;
- Ampoules d'oxydase (Institut Pasteur d'Algérie) ;
- Réactif Kovacs (Institut Pasteur d'Algérie) ;
- Réactif VP I (Institut Pasteur d'Algérie) ;
- Réactif VP II (Institut Pasteur d'Algérie) ;
- Réactif TDA (Tryptophane Désaminase) (Institut Pasteur d'Algérie) ;
- Disques d'antibiotiques (Bioanalys

Méthodes

3.1.5. Conduite expérimentale

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

Schéma expérimental global



3.1.6. Prélèvements

Dans le couvoir, dix poussins avec ombilic mal cicatrisé sont prélevés, ainsi que dix œufs non éclos, correspondant à chaque bâtiment d'élevage.

Au cabinet, les sacs vitellins des poussins et les embryons sont prélevés de manière aseptique, mis dans des pots de prélèvement stériles et identifiés. Ces derniers sont ensuite acheminés sous froid au laboratoire.



Figure2 : Prélèvements dans des pots stériles bien identifiés (photo personnelle)

3.1.7. Bactériologie

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

3.1.7.1. Isolement des *Escherichia coli*

Les prélèvements acheminés au laboratoire vont passer par les étapes suivantes :

3.1.7.1.1. Enrichissement

Le milieu d'enrichissement, tube de BHIB, estensemencé par l'introduction des fragments du sac vitellin ou de fragments d'embryons à l'intérieur du tube puis incubé 18 à 24h à 37°C.



Figure 3 : Enrichissement en milieu BHIB (photo personnelle)

3.1.7.2. Ensemencement

On procède à l'ensemencement par la technique d'épuisement, à partir du tube BHIB déjà préparé. Une goutte de BHIB est ensemencée sur la gélose Mac Conkey, puis une deuxième incubation est pratiquée pendant 18h - 24h à 37 °C.

3.1.7.3. Identification des *E. coli*

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

3.1.7.3.1. Identification morphologique

Sur le plan macroscopique :

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

Sur le plan microscopique :

Le procédé de coloration différentielle de Gram divise les bactéries en deux classes : Gram négatif et Gram positif. Les étapes de la coloration sont les suivantes :

Coloration avec le violet de gentiane pendant 1 minute, ce qui colore les Gram+ en violet ;

Fixation par une solution d'iode (lugol) pendant 1 minute ;

Décoloration par l'alcool pendant 30 secondes ;

Coloration à l'aide de la fuschine pendant 50 secondes, ce qui colore les Gram- en rose.

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

3.1.7.3.2. Identification biochimique

3.1.7.3.2.1. Catalase

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

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

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

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

3.1.7.3.2.2. Oxydase

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

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

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

3.1.7.3.2.3. Test des trois sucres (TSI)

Certaines espèces peuvent être identifiées grâce à ce test.

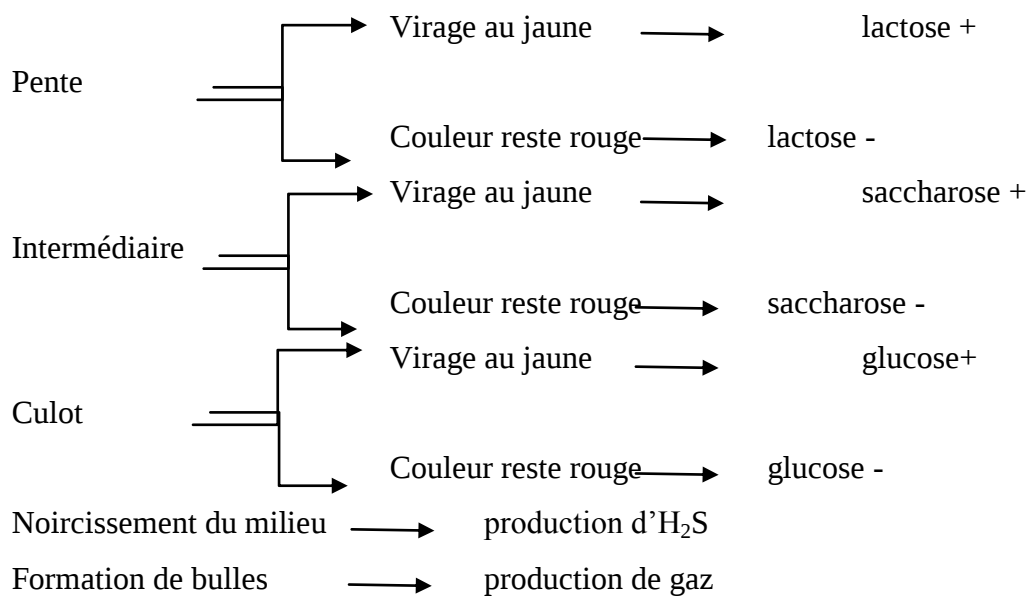
Un tube de milieu TSI est ensemencé avec la souche à étudier, en stries centrales sur la pente puis en piqure profonde dans le culot, et incubé 18 heures à 37°C. Ce test permet la mise en évidence de la fermentation du glucose (virage au jaune au niveau du culot), du lactose (coloration jaunâtre de la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

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



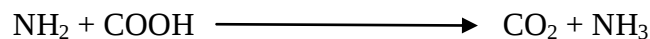
Figure 4 : Tubes du milieu TSI (Photo personnelle)

Lactose+, glucose+, saccharose+, gaz+ et H_2S -



3.1.7.3.2.4. Test de l'uréase

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



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

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

Milieu devient rouge → réaction positive

Milieu reste jaune → réaction négative

3.1.7.3.2.5. Test de l'indole

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

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

Anneau rouge → réaction positive

Anneau jaune → réaction négative

Les colonies présentant les caractères énumérés dans le tableau ci-dessous seront identifiées à l'aide d'une galerie API 20^E, galerie biochimique qui comprend 20 caractères biochimiques différents.

Tableau 4 : Caractères biochimiques recherchés par les milieux TSI et Urée-indole

Milieu	TSI					Urée-indole	
Test	Glucose	Saccharose	Lactose	H ₂ S	Gaz	Urée	Indole
Résultat	+	+	+	-	+	-	+

3.1.7.4. Identification biochimique par API 20 E

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 en dessous du microtube.

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

- Test de β -galactosidase :

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

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

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

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

Sur la plaque API 20 E, le microtube contient des substrats d'ONPG, donc on incube seulement la suspension bactérienne.

Toutes les bactéries possèdent une bêta-galactosidase et le Test ONPG est donc positif.

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

- Test de lysine décarboxylase (LDC), ornithine décarboxylase (ODC) et arginine déshydrogénase (ADH) :

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

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

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

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

- Test du citrate (CIT) :

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

De telles bactéries sont capables de croître sur un milieu synthétique, le milieu au citrate de Simmons, dont l'unique source de carbone est le citrate de sodium. Ce milieu contient également des sels d'ammonium comme unique source d'azote et du bleu de bromothymol comme indicateur de pH. Initialement, le pH du milieu est de 7,0 et à un tel pH le bleu de bromothymol a une teinte verte.

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

- Test de production d'hydrogène sulfuré (H₂S) :

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

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

- Test de l'urée (URE) :

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

- Test de tryptophane désaminase (TDA) :

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

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

- Test de l'indole (IND) :

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

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

- Test de Voges-Proskauer (VP) :

Les réactions de Voges-Proskauer (VP) permettent l'étude des dérivés de l'acide pyruvique. Le glucose utilisé par les bactéries est dégradé en acide pyruvique qui est un intermédiaire clef du métabolisme des glucides. Selon les bactéries, l'acide pyruvique peut être complètement oxydé ou être le point de départ de diverses voies fermentaires conduisant à une très grande variété de composants finaux dont la nature est caractéristique du type fermentaire : La fermentation acide mixte conduit à la production d'acide formique, d'acide acétique, d'acide lactique, d'acide propionique, d'acide succinique, de dioxyde de carbone,

d'hydrogène, d'éthanol, etc. La fermentation acide mixte provoque une acidification importante d'un milieu glucosé.

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

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

- Test de diffusion de pigment noir (GEL) :

La technique rapide gélatinase de Kohn-Lautrop consiste à faire attaquer par la bactérie étudiée un fragment de gélatine dans lequel on a préalablement inclus du charbon de bois finement pulvérisé (gélatine dénaturée au charbon). La gélatinase, éventuellement produite par le germe, désagrége la gélatine et libère le charbon de bois qui diffuse dans tout le milieu. L'hydrolyse de la gélatine se traduit par la libération de particules de charbon de bois qui colorent le milieu en noir.

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

Oses : arabinose (ARA), glucose (GLU).

Dérivés des oses : amygdaline (AMY), mannitol (MAN), rhamnose (RHA), sorbitol (SOR).

Diholosides : mélibiose (MEL), saccharose (SAC).

Molécule organique cyclique : inositol (INO).

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

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

Mode opératoire

a- Préparation de la galerie

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

b- Préparation de l'inoculum

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

c- Inoculation de la galerie

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette.
- Pour éviter la formation des bulles au fond du tube, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant ;
- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule ;
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non pas les cupules) ;
- Pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S et URE, créer une anaérobiose en remplissant les cupules d'huile de paraffine ;
- Refermer la boîte d'incubation ;
- Incuber à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

d- Lecture de la galerie

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

- Une goutte de réactif TDA au test TDA ;
- Une goutte de réactif James au test IND ;
- Une goutte de réactif VP I et VP II, et attendre au minimum 10 mn, au test VP.

d. Interprétation de la galerie

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

La réaction d'oxydase, qui constitue le 21^{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 ApiwebTM, en entrant manuellement le profil à 7 chiffres.

3.1.8. Antibiogramme

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

3.1.8.1. Principe

La méthode de diffusion, ou antibiogramme standard, est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques à tester, sont déposés sur la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de souche à étudier.

Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme, si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent d'une zone d'inhibition circulaire correspondant à une absence de colonies.

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

3.1.8.2. Technique

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

Inoculum

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

Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
 - L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum ;
 - Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;
 - Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- N.B. : Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

Application des disques d'antibiotiques

Il ne faut pas mettre plus de six disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre ;
Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre ;
Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince pour s'assurer de son application.
Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

Incubation

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

Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée ;
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI des entérobactéries figurant dans les tables de standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS 2011 et les tables de lecture de CA-SMF 2010 ;
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante.

3.1.8.3. Recherche des β -lactamases à spectre élargi

Les β -lactamases à spectre élargi ou étendu désignent les enzymes β -lactamases produites par les entérobactéries. Ces enzymes codent pour la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération (Céfotaxime, Ceftriaxone, Ceftazidime) et Monobactam (Aztreonam), mais n'ont aucune activité vis-à-vis des Céphamycines (Cefoxitine, Moxalactam) ni des Carbapénèmes (Imipénème).

Méthode de détection

On effectue deux tests : le test de synergie et le test de confirmation :

a- Test de synergie (selon Jarlier *et al.*, 1988)

Principe

Les BLSE inactivent les céphalosporines de 3^{ème} génération et sont sensibles aux inhibiteurs de β -lactamases comme l'acide clavulanique. Ceci se traduit le plus souvent, sur l'antibiogramme, par une image de synergie caractéristique dite "en bouchon de Champagne" entre un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération et un disque imprégné d'un inhibiteur de β -lactamase.

Technique

La recherche de BLSE se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme : on dépose un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10 μ g), à 30 mm, centre à centre, d'un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération, la Céfotaxime (CTX 30 μ g). On incube pendant 18 h à 35°C.

Lecture

La production d'enzyme se traduit par l'apparition d'une image de synergie "en bouchon de Champagne" entre les disques amoxicilline-acide clavulanique et Céfotaxime.

b- Test de confirmation : technique de double disque

Ce test est réalisé systématiquement devant l'absence de synergie avec diminution des diamètres des C3G.

Technique

À partir d'une culture de 18h, on prépare une suspension bactérienne d'une opacité égale à 0,5 Mc Farland. On ensemence, à l'aide d'écouvillonnage, la boîte de milieu MH et on applique les disques d'antibiotiques de la façon suivante :

- On dépose un disque d'AMC (20/10 µg) et un disque de C3G (CTX 30 µg), à une distance de 30 mm centre à centre.
- On laisse diffuser les antibiotiques pendant une heure à température ambiante, le couvercle vers le haut.
- Après une heure d'incubation, on ôte le disque d'AMC et on le remplace par un disque de CTX. On incube la boîte à 35°C pendant 18 h.

Lecture

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de C3G, appliqué après pré-diffusion du disque de l'AMC, est supérieur ou égal à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque C3G.

4. Résultats et discussion

4.1. Isolement et identification des souches *E. coli*

Sur les 59 prélèvements effectués à partir de 300 poussins présentant des ombilics non cicatrisés et 300 œufs embryonnés, un total de 42 souches d'*E. coli* est isolé, ce qui représente une prévalence de 71,19%, avec un intervalle de confiance de [58,4-81,6].

Les souches *E. coli* sont isolées et identifiées grâce à leurs caractères morphologiques et biochimiques.

4.1.1. Caractères morphologiques

Sur gélose Mac Conkey, les colonies d'*E. coli* sont apparues rondes, bombées, brillantes, à bords nets, de 2 à 3 mm de diamètre, de couleur rose clair (lactose+) et entourées d'un halo opaque (précipitation des sels biliaires). Plusieurs types différents de colonies lactose+ et qui appartiennent, après les tests biochimiques, soit au genre *E. coli* soit à d'autres genres d'entérobactéries lactose+ tels que les autres coliformes (*Citrobacter*, *Enterobacter*).



Figure 5 : Aspect macroscopique des colonies d'*E. coli* sur milieu McConkey

Sous microscope optique

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

4.1.2. Caractères biochimiques

Les profils biochimiques d'*E. coli* isolés sont presque identiques, à savoir par :

- Le test d'orientation rapide

Le profil biochimique recherché est le suivant : oxydase-, H₂S-, lactose+, glucose+, saccharose+, gaz+, indole+ et uréase-.

- La galerie API20 E

Les souches identifiées comme *E. coli* présentent le phénotype ci-dessous (figure 11).

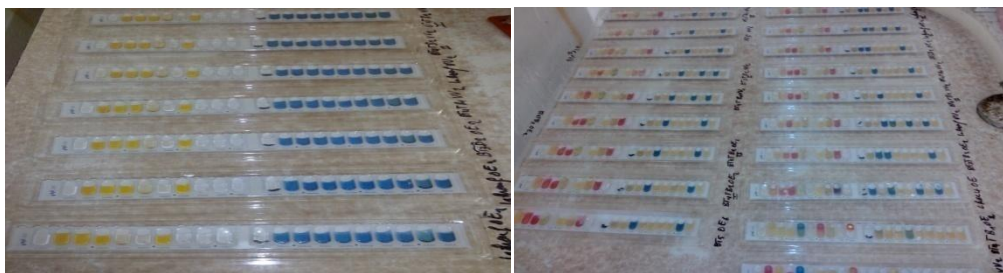


Figure 6 : Galeries API 20^E avant et après incubation (photo personnelle)

4.2. Antibiogramme

Les 42 souches sont testées pour leur sensibilité aux 12 antibiotiques. Sur chaque antibiogramme et pour chaque antibiotique testé, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés. Les valeurs sont comparées aux valeurs critiques mentionnées sur les tables de standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS 6^{ème} édition, 2011 (voir annexes) pour permettre de classer les bactéries dans l'une des catégories : Résistante (R), intermédiaire (I) ou sensible (S).

Les figures 13 et 14 montrent l'antibiogramme après incubation 18 heures à 37°C :



Figure 7 : Antibiogramme après incubation 18 h à 35°C (photo personnelle)

Le résultat des antibiogrammes des souches *E. coli* isolées sont présentés dans le tableau des résultats (voir annexe).

Le tableau 5 et la figure 14 montrent les pourcentages de résistance des souches *E. coli* isolées lors de notre étude :

Tableau 5 : Pourcentage de résistance et de sensibilité des souches *E. coli*

ATB	Phénicolés		Sulfamides		Aminosides				Polypeptides		Quinolones				Tétracyclines		β-Lactamines		Céphalosporines				Furanes	
	C30		TMP		CN10		K30		CT10		NA30		OF		TE		AMC		CF		XNL		F300	
	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
Nb de souches	3	39	28	14	1	41	12	30	0	42	38	4	41	1	34	8	31	11	4	38	0	42	9	33
%	7,14	92,86	66,67	33,33	2,38	97,62	28,57	71,43	0	1	90,48	9,52	80,95	19,05	97,61	2,39	73,81	26,19	9,52	90,48	0	1	21,43	78,57

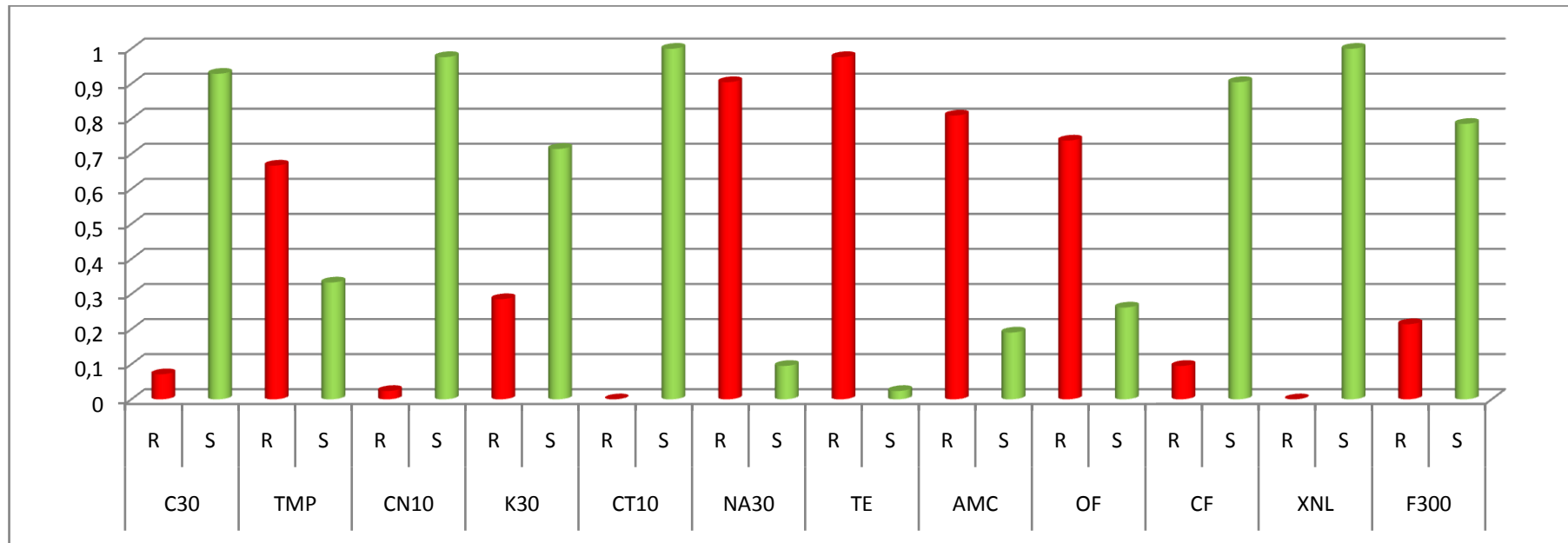


Figure 8 : Pourcentages des résistances des souches *E. coli*

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

Le groupe 1 comprend les antibiotiques pour lesquels de très hauts niveaux de résistance sont relevés (70 à 100%). Ces antibiotiques, par ordre décroissant, sont : Tétracycline 97,61%, Acide nalidixique 90,48%, Ofloxacine 80,95%, Amoxicilline-acide clavulanique 73,81%.

Le groupe 2 comprend les antibiotiques pour lesquels des niveaux moyens de résistance (30 à 70%) sont observés : Triméthoprim 66,67%.

Le groupe 3 comprend les antibiotiques pour lesquels des niveaux bas de résistance sont considérés (0 à 30%). Il s'agit de : Kanamycine 28,57%, Nitrofurantoïne 21,43%, Céfaloïne 9,52%, Chloramphénicol 7,14%, Gentamycine 2,38%, Cefotiofur 0%, et Colistine 0%.

De cette étude, il ressort que les molécules les plus efficaces contre les colibacilles sont ceux qui sont classées dans le groupe 3, avec des taux de sensibilité significativement plus élevés par rapport aux autres antibiotiques de différentes familles. Les taux de sensibilité sont de 71,43% pour Kanamycine, 78,57% pour Nitrofurantoïne, 90,48% pour Céfaloïne, 92,86% pour gentamycine et 100% pour Cefotiofur et colistine. Aucune de ces molécules n'est présente sur le marché algérien dans les médicaments aviaires, sauf la colistine qui est indiquée dans la forme entérique de colibacillose car elle n'est pas suffisamment absorbée au niveau intestinal.

Tableau 6 : Fréquence de l'antibiorésistances dans notre étude et pour d'autres auteurs

Auteurs	C30	TMP	CN10	K30	CT10	NA30	TE	AMC	OF	CF	XNL	F300
Notre étude	7,1 ^a	66,6 ^a	2,3 ^a	28,5 ^a	0	90,4 ^a	97,6 ^a	80,9	73,8 ^a	9,5	0 ^a	21,4 ^a
Blanco <i>et al.</i> (1997a), Espagne	25 ^b	63 ^a	14 ^b	14 ^b	0 ^{**}	48 ^b	84 ^a	/	18 ^b	/	/	49 ^b
Yang <i>et al.</i> (2004), Chine	24 ^b	63 ^a	30 ^b	/	/	100 ^a	100 ^a	/	90 ^a	/	/	/
Zhao <i>et al.</i> (2005), USA	11 ^a	16 ^b	69 ^b	/	/	59 ^b	87 ^a	/	16 ^b	/	3 ^a	/
ZharraeiSalehiet FarashiBonab (2006), Iran	67 ^b	80 ^a	0 ^{**}	81 ^b	6 ^b	100 ^a	88 ^a	/	76 ^a	/	/	56 ^b
Kim <i>et al.</i> (2007), Corée	9,8 ^a	52,9 ^a	33,3 ^b	/	/	/	94,1 ^a	/	92 ^b	/	/	/
Bouzagh (2010), en 2007, Centre Algérie	/	94,7 ^b	/	12 ^b	16 ^b	38,7 ^b	100 ^a	/	76 ^a	/	/	0 ^{b*}
Bouzagh (2010), en 2008, Centre Algérie	/	96,4 ^b	/	61,6 ^b	14,5 ^b	48,6 ^b	88,4 ^a	/	70,3 ^a	/	/	21 ^a
Hammoudi et Aggad (2008), Ouest Algérie	/	42 ^b	/	/	3 ^{**}	/	82 ^a	/	6 ^b	/	/	/
Saberfaret <i>al.</i> (2008), Iran	0,52 ^b	72 ^a	12 ^b	87 ^b	100 ^b	/	96 ^a	/	76 ^a	/	/	/
Ammar (2009), Ouest Algérie	/	70 ^a	3 ^{**}		13 ^b	/	87 ^a	/	45 ^b	/	/	2 ^b
Messaïet <i>al.</i> (2011)	45,6 ^b	82,2 ^a	5,5 ^a	75 ^b	5,5 ^a	96,7 ^a	98,3 ^a	/	72,2 ^a	/	/	18,9 ^a

Test : Chi2

a : Taux non significativement élevé ($p > 0,05$) sur une même colonne

b : Taux significativement élevé ($p < 0,05$) sur une même colonne

* : Correction de Yates pour le test Chi2 (effectif théorique inférieur à 10)

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

4.3. Resistances individuelles par familles d'antibiotiques

4.3.1. β -Lactamines

Les résultats mettent en évidence une forte résistance des *E. coli* à cette famille d'antibiotiques, avec un taux de 73,81% pour l'Amoxicilline-acide clavulanique. Cette molécule fait partie du premier groupe selon la classification de Saberfar *et al.* (2008). Autrefois, cet antibiotique (Amoxicilline) était largement utilisé dans le traitement des infections à *E. coli*, ce qui explique que de nos jours, la sensibilité de cette bactérie à cette molécule a beaucoup diminué. En Algérie, des études ont été menées dans les régions du centre (Bouzagh, 2010 ; Ghalmiet *al.*, 2012) et de l'Est (Messaiet *al.*, 2011). Les résultats obtenus concordent avec ceux de notre étude : dans la région centre, les taux sont de l'ordre de 86% et 84% et, dans la région Est, de l'ordre de 84%.

Divers mécanismes de résistance des *E. coli* vis-à-vis des molécules de cette famille sont décrits : par imperméabilisation, par altération des PLP ou PBP ou par production de β -lactamase. Ce dernier mécanisme ne semble pas plausible car les résultats obtenus par les disques d'AMC et ceux obtenus par les disques AMP sont identiques.

4.3.2. Céphalosporines

Les deux molécules testées sont la Céfotaxime et Ceftiofur pour la recherche des BLSE.

La Ceftiofur (C3G) est efficace sur les souches testées, avec un taux de résistance de 0%, et la Céfotaxime avec un taux de résistance de 9,5%.

La résistance bactérienne la plus faible est observée vis-à-vis du Ceftiofur. Dans une première étude chinoise, seulement 3% des souches sont résistantes à cette molécule (Zhao *et al.* 2005). Dans une autre étude menée en Chine, 11,5% des souches collectées entre 2004 et 2005 se sont montrées résistantes à la Céfotaxime (C3G) (Li *et al.*, 2010).

Les antibiotiques représentés par les C3G jouent un rôle dans le traitement des infections invasives graves en médecine humaine, d'où leur importance dans le domaine de la santé publique (Paterson et Bonomo, 2005). Les cas de résistance contre les C3G sont de plus en plus fréquents en médecine humaine et vétérinaire.

La résistance acquise d'*E. coli* aux céphalosporines, par la production de BLSE, est présente chez toutes les espèces animales mais a subi une nette augmentation dans les élevages intensifs de poulets de chair à travers le monde (Bortolaia *et al.*, 2010). La prévalence des BLSE était de 3,6% pour *E. coli* isolés de matières fécales chez des poulets prélevés dans des

abattoirs en Grande-Bretagne (Randall *et al.*, 2011). Sur des poulets importés au Royaume-Uni, 7,6% étaient porteurs d'*E. coli* BLSE positives (Dhanji *et al.*, 2010).

En chine, les APEC productrices de BLSE ont émergé à partir de 2004 pour atteindre 18,5% chez les souches isolées entre 2004 et 2007 (Li *et al.*, 2010).

Dans notre étude, aucune souche productrice de β -lactamase à spectre élargie (BLSE) n'a été isolée. En effet, la synthèse d'une BLSE par les entérobactéries confère à celles-ci une résistance croisée vis-à-vis de toutes les β -Lactamines sauf les Céphamycines et les Carbapénèmes.

Les *E. coli* résistants aux céphalosporines peuvent être transmis du poulet à l'homme, non seulement par contact direct mais aussi indirectement via la consommation de viande de poulet ou par contact avec des eaux de surface ou des légumes contaminés à partir du poulet (Van de Bogaard *et al.*, 1999 ; Blake *et al.*, 2003).

Vu que les gènes codant pour la résistance BLSE sont situés sur des éléments génétiques mobiles (Thomson et Moland, 2000), il est possible que la transmission de la résistance aux céphalosporines ait lieu à partir des *E. coli* résistant aux céphalosporines ingérées vers les bactéries commensales et pathogènes humaines après passage par l'humain. Une étude néerlandaise de Leverstein van Hall *et al.* (2011) a démontré que les *E. coli* résistant aux céphalosporines présents chez la volaille vivante, sur la viande de poulet et chez l'homme, contiennent en grande partie les mêmes gènes de résistance BLSE.

4.3.3. Tétracyclines

Pour cette famille d'antibiotiques, un taux de résistance de 97,62% est obtenu vis-à-vis de l'oxytétracycline, plaçant cette molécule à la première place dans le premier groupe renfermant les taux de résistance les plus élevés.

Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006), Zhao *et al.* (2005), Hammoudi et Aggad (2008), Ahmed Ammar (2009), Bouzagh (2010) durant l'année 2008 et Blanco *et al.* (1997a) en Espagne obtiennent les fréquences de résistance suivantes : 88, 87, 82, 87, 88,4 et 84% respectivement. Ces résultats sont inférieurs à ceux observés dans notre étude.

Cependant, nos résultats rejoignent ceux de Yang *et al.* (2004) en Chine, et Bouzagh (2010) durant l'année 2007 dans la région centre d'Algérie, qui observent des taux de 100%, de même que ceux de Saberfar *et al.* (2008) en Iran et Messai *et al.* (2011) dans la région Est d'Algérie qui obtiennent 96 et 98,3% respectivement. Statistiquement, il n'existe pas de différence significative entre nos résultats et ces différents auteurs ($p > 0.05$).

Les tétracyclines représentent les plus anciennes molécules utilisées, autant en thérapie qu'en préventif, et même en tant que facteurs de croissance, engendrant des résistances très élevées en aviculture.

La persistance et l'augmentation croissante de cette résistance sont attribuées, en partie, à l'usage intensif de cette famille d'antibiotiques à large spectre, mais également à leur incorporation systématique dans l'alimentation des animaux d'élevage destinés à la consommation humaine, à des doses souvent sub-thérapeutiques, en prophylaxie ou dans le but de stimuler la croissance. Cette dernière possibilité a été évoquée il y a plus de 50 ans comme cause probable de l'apparition des souches résistantes comme rapporté par Abdennebi (2006).

4.3.4. Les quinolones

Dans cette étude, la sensibilité des souches isolées est testée vis-à-vis de l'acide nalidixique, quinolone de première génération, et ofloxacin, quinolone de troisième génération. Les taux de résistances sont de 90,48% pour l'acide nalidixique et de 73,81% pour l'ofloxacin.

Nos souches présentent une forte résistance, qui dépasse 70%, pour les deux molécules de cette famille, ce qui permet de les classer dans le groupe 1, de fortes résistances (Saberfar *et al.*, 2008).

Pour l'acide nalidixique, nos résultats sont significativement plus élevés que ceux enregistrés aux États-Unis par Zhao *et al.* (2005) qui obtiennent un taux de 59%, dans la région centre d'Algérie par Bouzagh (2010) qui obtient un taux de 38,7% en 2007 et de 48,6% en 2008, et en Espagne par Blanco *et al.* (1997a) où ils enregistrent un taux de 48%.

Cependant, on obtient un taux similaire à ceux enregistrés en Iran par ZharaeiSalehi et FarashiBonab (2006) et en chine par Yang *et al.* (2004) qui consignent un taux de l'ordre de 100% pour cet antibiotique, ainsi que celui rapporté par Messai *et al.* (2011) dans l'Est Algérien, qui est de l'ordre de 96,7%, mais sans différence significative ($p > 0,05$).

Pour ce qui concerne l'ofloxacin, nos résultats sont significativement plus élevés ($p < 0,05$) que ceux obtenus par Zhao *et al.* (2005) aux États-Unis, dans la région Ouest de l'Algérie par Hammoudi et Aggad (2008) et Ahmad Ammar (2009), et ceux de Blanco *et al.* (1997a) en Espagne où des taux de 16, 6, 45, et 18% sont respectivement enregistrés.

Par ailleurs, nos résultats sont comparables à ceux obtenus en Iran par ZharaeiSalehi et FarashiBonab (2006) et Saberfar *et al.* (2008) qui enregistrent le même taux (76%), dans la région centre d'Algérie par Bouzagh (2010) durant les deux années 2007 et 2008 où l'auteur enregistre les taux de 76 et 70,3% respectivement, et Messai *et al.* (2011) dans l'Est

algérien, qui a enregistré un taux de 72,2%. Statistiquement, il n'existe cependant pas de différence significative ($p > 0,05$).

Nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Yang *et al.* (2004) en Chine, et Kim *et al.* (2007) en Corée, qui enregistrent des taux de l'ordre de 90% pour le premier et un taux de 92,2% pour les seconds auteurs. Statistiquement, la différence n'est pas significative entre nos résultats et ceux de Yang *et al.* (2004), mais pas avec les résultats de Kim *et al.* (2007).

Ces taux très élevés de résistance à cette famille d'antibiotiques peuvent être expliqués, d'une part, 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 abordable, alors qu'il y a quelques années, il n'existait que la molécule mère, très onéreuse ; d'autre part au fait que les quinolones partagent un seul et même mécanisme d'action. Par conséquent, la résistance acquise vis-à-vis de l'une confère automatiquement la résistance aux autres membres de cette famille d'antibiotiques (résistance croisée).

Selon Boucheron *et al.* (2003), deux mutations dans le gène *gyrA* et une ou deux mutations dans le gène *parC* au niveau de la région QRDR (Quinolone Resistance Determining Region), chez les souches *E. coli* d'origine aviaire, confère un haut niveau de résistance vis-à-vis de l'acide nalidixique et de l'ofloxacine.

4.3.5. Les Sulfamides

Pour cette famille d'anti-infectieux, la sensibilité des souches est testée vis-à-vis du triméthoprim. Nos résultats indiquent un fort taux de résistance vis-à-vis de cette molécule (66,67%), significativement plus élevés ($p < 0,05$) que ceux enregistrés par Zhao *et al.* (2005) aux États-Unis et Hammoudi et Aggad (2008) dans l'Ouest Algérien, où ils obtiennent des taux de 16 et 42% respectivement.

Nos résultats sont aussi supérieurs à ceux obtenus par Blanco *et al.* (1997a) en Espagne, Yang *et al.* (2004) en Chine et Kim *et al.* (2007) en Corée, où ils obtiennent respectivement des taux de 63, 63 et 52,9%, mais statistiquement il n'existe pas de différence significative ($p > 0,05$).

Les taux obtenus par Ahmed Ammar (2009) dans l'Ouest Algérien, Saberfar *et al.* (2008) en Iran, Zharaei Salehi et Farashi Bonab (2006) et Messai *et al.* (2011) dans l'Est Algérien, 70, 72, 80 et 82,2% respectivement, sont élevés par rapport à nos résultats, mais la différence n'est pas significative statistiquement ($p > 0,05$).

Dans la région centre de l'Algérie, Bouzagh (2010) obtient des niveaux très élevés de résistance pour cette famille d'antibiotiques, avec un taux de 94,7% enregistré pour l'année

2007 et de 97,4% pour l'année suivante. Nos résultats sont significativement inférieurs à ceux de Bouzagh (2010).

Les taux importants enregistrés, sont probablement la conséquence de prescriptions fréquentes et inappropriées de cet anti-infectieux.

4.3.6. Les aminosides

La sensibilité des souches isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de deux molécules de cette famille, que sont la gentamycine et la Kanamycine.

Selon Saberfar *et al.* (2008), nos résultats permettent de classer la sensibilité de nos souches vis-à-vis de ces deux antibiotiques dans le groupe 3, avec des taux de résistance de 2,38 et 28,57% respectivement.

Pour la Kanamycine, nos résultats sont significativement plus faible ($p < 0,05$) que ceux obtenus par Messai *et al.* (2011) dans l'Est Algérien, ZharaeiSalehi et FarashiBonab (2006), Bouzagh (2010) dans la région centre de l'Algérie et Saberfar *et al.* (2008), qui obtiennent des taux de l'ordre de 75, 81, 61,6 et 87% respectivement.

Les résultats obtenus par Blanco *et al.* (1997a) en Espagne et Bouzagh (2010) dans la région centre de l'Algérie, 14 et 12% respectivement, sont significativement plus faibles que ceux rapportés dans notre étude ($p < 0,05$).

Concernant la gentamycine, les études de Yang *et al.* (2004) en Chine, Kim *et al.* (2007) en Corée, Zhao *et al.* (2005) aux États-Unis, Blanco *et al.* (1997a) et Saberfar *et al.* (2008) montrent des taux de résistance significativement plus élevés que les nôtres ($p < 0,05$). Les taux sont 30, 33,3, 69, 14 et 12% respectivement, alors que le taux de résistance est très faible dans notre étude, de 2,38%.

Par ailleurs, Messai *et al.* (2011) et Ahmed Ammar (2009) enregistrent des taux bas qui se rapprochent du nôtre, 5,5 et 3% respectivement, et aucune résistance n'est signalée par ZharaeiSalehi et FarashiBonab (2006) en Iran vis-à-vis de la gentamycine.

Les taux relativement élevés vis-à-vis de la Kanamycine sont dus à l'utilisation de la néomycine dans les élevages aviaires, sachant que la réponse à la néomycine est valable pour la Kanamycine.

La forte sensibilité des souches *E. coli* vis-à-vis de la gentamycine est due à l'absence d'utilisation de cet antibiotique dans les élevages avicoles.

4.3.7. Les polypeptides

La sensibilité des souches est testée vis-à-vis de la molécule type de cette famille d'antibiotiques qui est la colistine ou polymyxine E. Les résultats indiquent que toutes les souches sont sensibles à cette molécule.

Le taux enregistré dans notre étude est significativement plus bas ($p < 0,05$) que ceux obtenus par Bouzagh (2010), Saberfar *et al.* (2008), Ahmed Ammar (2009) et ZharaeiSalehi et FarashiBonab (2006), qui sont de l'ordre de 14,5, 16, 100, 13 et 6% respectivement.

Cependant, des taux très faibles sont rapportés par Hammoudi et Aggad (2008) et Messai *et al.* (2011), de l'ordre de 3 et 5,5% respectivement. Blanco *et al.* (1997a) en Espagne ne signalent aucune résistance vis-à-vis de cet antibiotique, et ces résultats concordent avec les nôtres.

Ce faible taux 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 colibacilloses respiratoires et systémiques. Elle est cependant utilisée en association avec les β -Lactamines car cette association procure un effet synergique et peut aider à la maîtrise des colibacilles pathogènes respiratoires encore en situation intestinale.

D'autre part, les résistances des bactéries Gram- sont rares vis-à-vis de la colistine, voire exceptionnelles, car elles sont de type chromosomique (la mutation chromosomique est un phénomène rare) comme rapporté par Garnacho-Montero *et al.* (2003).

4.3.8. 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 7,14%.

Le taux obtenu dans cette étude est significativement plus faible que celui obtenu par Blanco *et al.* (1997a) en Espagne, Yang *et al.* (2004) en Chine, ZharaeiSalehi et FarashiBonab (2006) en Iran, Saberfar *et al.* (2008) et Messai *et al.* (2011) dans l'Est Algérien, où ils obtiennent les taux suivant : 25, 24, 67, 52 et 45.6% respectivement.

Zhao *et al.* (2005) aux États-Unis et Kim *et al.* (2007) en Corée rapportent des taux supérieurs à nos résultats, 11 et 9,8% respectivement. Mais la différence n'est pas significative.

Ce médicament n'est plus sur le marché officiel, ce qui explique le faible taux de résistance enregistré.

4.3.9. Les furanes

La sensibilité de nos souches est testée vis-à-vis du Nitrofurantoïne pour lequel le taux de résistance est de 21,43%.

Ce taux est significativement plus élevé ($p < 0,05$) que celui obtenu par Ahmed Ammar (2009) dans l'Ouest algérien, qui de 2% alors que durant l'année 2007 aucune résistance vis-à-vis de cet antibiotique n'est signalée par Bouzagh (2010).

Bouzagh (2010), dans son étude en 2008, rapporte un taux de résistance semblable au nôtre est de 21%, mais la différence est statistiquement non significative ($p > 0,05$).

En Iran, un taux significativement plus élevé ($p < 0,05$) que le nôtre, de l'ordre de 56%, est rapporté par ZharaeiSalehi et FarashiBonab (2006), ainsi qu'en Espagne par Blanco *et al.* (1997a) où ils enregistrent un taux de 49%.

Cet antibiotique a été retiré de la nomenclature vétérinaire, et la résistance observée est probablement 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 résistance aminoglycoside et nitrofurane.

4.4. Les multi-résistances

Les taux de multirésistance sont présentés dans le tableau 7 et illustrés dans la figure 15 :

Tableau 7 : Pourcentages de multirésistance des souches *E. coli* aux antibiotiques

Nombre d'antibiotiques	Nombre de souches résistantes	Pourcentage des souches résistantes (%)
Aucune résistance	0	0
À 1 antibiotique	0	0
À 2 antibiotiques	4	9
À 3 antibiotiques	8	19
À 4 antibiotiques	4	10
À 5 antibiotiques	11	26
À 6 antibiotiques	10	24
À 7 antibiotiques	2	5
À 8 antibiotiques	3	7

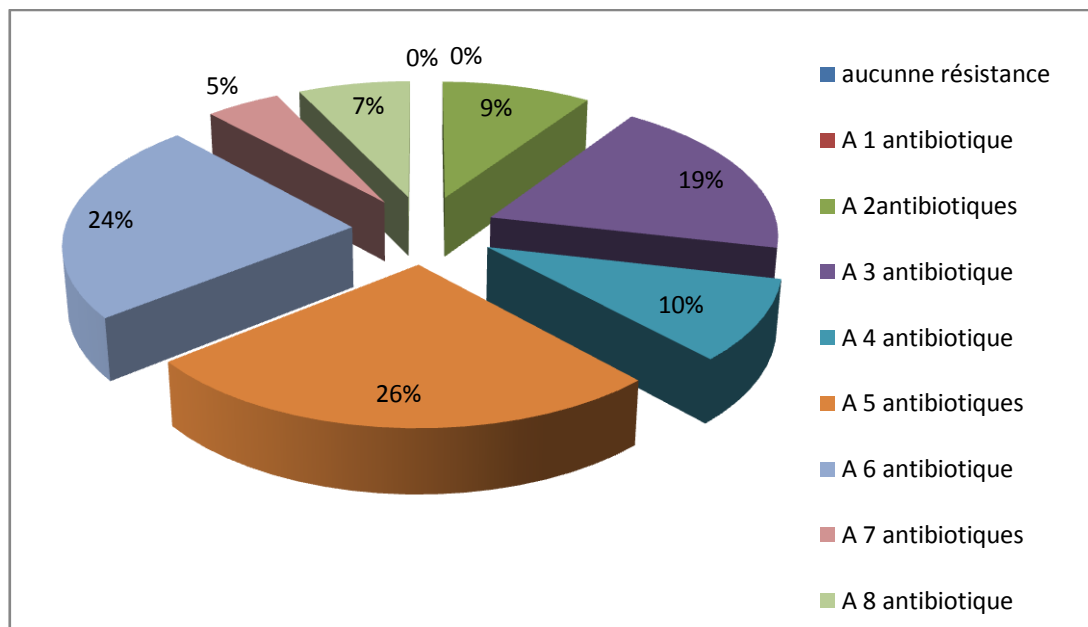


Figure 9 : Pourcentages de multirésistance des souches *E. coli* isolées

Le tableau et la figure montrent que toutes nos souches sont multirésistantes. Ainsi, parmi les 42 souches d'*E. coli* isolées, il n'en existe aucune qui ne soit résistante ni à aucun ni à un seul antibiotique.

Toutes les souches sont résistantes à au moins deux antibiotiques alors que 90,4% sont résistantes à au moins trois antibiotiques, 71,4% à au moins quatre antibiotiques, 61,9% à au moins cinq antibiotiques, 35,7% à au moins six antibiotiques, 11,9% à au moins sept antibiotiques et 7,1% résistent à huit antibiotiques.

Tableau 8 : Fréquence de l'antibiorésistance dans notre étude et pour divers auteurs

Nombre d'ATB	2	3	4	5	6	7	8
Auteurs							
Notre étude	100a	90,4a	71,4a	61,9a	35,7a	11,9a	7,1a
Messaïet <i>al.</i> (2011), Est Algérien	100a	98,9a	93,9a	87,2b	83,3b	75,5b	56,1b
Yang <i>et al.</i> (2004), Chine	/	100a	/	/	/	/	/
Zhao <i>et al.</i> (2005), États-Unis	/	87a	/	67a	/	/	32b
ZharaeiSalehiet FarashiBonab (2006), Iran	100a	/	/	/	/	/	/
Saberfaret <i>al.</i> (2008), Iran	/	/	100b	99b	/	/	/
Hammoudi et Aggad(2008), Ouest Algérie	92a	67a	22b	10b	/	/	/
Ahmed Ammar (2009), Ouest Algérie	72b	45b	9b	4b	/	/	/

Test Chi²

a : Taux non significativement élevé ou bas ($p > 0,05$) sur une même colonne.

b : Taux significativement élevé ou bas ($p < 0,05$) sur une même colonne.

4.5. Résistance vis-à-vis de deux antibiotiques et plus

Toutes les souches sont résistantes à deux antibiotiques et plus. Ce résultat concorde avec ceux enregistrés en Iran par Zharraei Salehi et Farashi Bonab (2006) et Messai *et al.* (2011) dans l'Est algérien.

Dans la région de l'Ouest algérien, Hammoudi et Aggad (2008) enregistrent un taux de 92% de multirésistance. Quoique ce taux soit faible par rapport au nôtre, statistiquement il n'existe pas de différence significative ($p > 0,05$).

Un taux significativement plus bas que le nôtre est enregistré dans l'Ouest par Ahmed Ammar (2009), de 72%.

4.6. Résistance vis-à-vis de trois antibiotiques et plus

Pour la résistance à trois antibiotiques et plus, nos résultats sont significativement plus élevés ($p < 0,05$) que ceux enregistrés dans la région de l'Ouest algérien par Ahmed Ammar (2009).

Cependant, des résultats similaires aux nôtres sont rapportés en Chine par Yang *et al.* (2004), aux États-Unis par Zhao *et al.* (2005), à l'Ouest algérien par Hammoudi et Aggad (2008) et à l'Est algérien par Messai *et al.* (2011) où les taux sont de 100, 87, 67 et 98,9% respectivement, mais sans différence significative ($p > 0,05$).

4.7. Résistance vis-à-vis de quatre antibiotiques et plus

Pour la résistance à quatre antibiotiques et plus, nos résultats sont significativement plus élevés ($p < 0,05$) que ceux enregistrés par Ahmed Ammar (2009) et Hammoudi et Aggad (2008) dans l'Ouest algérien où les taux sont de 9 et 22% respectivement.

Dans l'étude de Saberfar *et al.* (2008) en Iran, toutes les souches présentent une résistance à 4 antibiotiques et plus. Ces résultats sont significativement plus élevés que les nôtres ($p < 0,05$).

Par contre, nos résultats concordent avec ceux obtenus par Messai *et al.* (2011) dans l'Est algérien, qui sont de l'ordre de 93,9%, vu que la différence n'est pas significative statistiquement ($p > 0,05$).

4.8. Résistance vis-à-vis de cinq antibiotiques et plus

Pour la résistance à cinq antibiotiques et plus, nos résultats sont significativement plus élevés que ceux rapportés par Ahmed Ammar (2009) et Hammoudi et Aggad (2008) dans l'Ouest algérien, où les taux sont de 4 et 10% respectivement.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Zhao *et al.* (2005) aux États-Unis, qui obtiennent un taux de 67%, mais sans différence significative ($p > 0,05$).

Par ailleurs, nos résultats sont significativement plus faibles ($p < 0,05$) que ceux obtenus par Messai *et al.* (2011) et Saberfar (2008).

4.9. Résistance vis-à-vis de six antibiotiques et plus

Pour la résistance à six antibiotiques et plus, nos résultats sont significativement plus faibles ($p < 0,05$) que ceux obtenus par Messai *et al.* (2011) dans l'Est algérien, qui sont de l'ordre de 83,3%.

4.10. Résistance vis-à-vis de sept antibiotiques et plus

Pour la résistance à sept antibiotiques et plus, nos résultats sont significativement plus faibles ($p < 0,05$) que ceux obtenus par Messai *et al.* (2011) dans l'Est algérien, de l'ordre de 75,5%.

4.11. Résistance vis-à-vis de huit antibiotiques et plus

Pour la résistance à huit antibiotiques et plus, nos résultats sont significativement plus faibles ($p < 0,05$) que ceux obtenus par Messai *et al.* (2011) dans l'Est algérien et Zhao *et al.* (2005) aux États-Unis, de l'ordre de 56,1 et 32% respectivement.

Cette forte multirésistance peut être due à l'utilisation anarchique et abusive des antibiotiques dans le secteur avicole, sans recours à l'antibiogramme.

Lafont *et al.* (1984) et Chulasiri et Suthienkul (1989) rapportent que les caractéristiques des souches *E. coli* aviaires sont souvent identifiées chez d'autres souches *E. coli* isolées d'autres animaux. De ce fait, les souches *E. coli* aviaires peuvent être une source potentielle de transmission de gènes et plasmides qui codent pour la résistance aux antibiotiques, ainsi que des facteurs de virulence.

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

4.12. Les antibiotypes (profils de résistance, phénotypes)

Dans notre étude, 21 antibiotypes différents sont isolés, et sont rapportés dans le tableau 9 :

Tableau 9 : Liste des antibiotypes l'*E. coli* isolés

Antibiotypes									Nb de souches
C30	TMP	K30	NA30	TE	AMC	OF	F300	A	3
TMP	NA30	TE	AMC	OF	CF	F300		B	1
TMP	K30	NA30	TE	AMC	OF	CF		C	1
TMP	NA30	TE	AMC	OF	F300			D	2
TMP	K30	NA30	TE	AMC	OF			E	7
TMP	CN10	NA30	TE	AMC	OF			F	1
TMP	NA30	TE	AMC	OF				G	6
TMP	NA30	TE	AMC	CF				H	2
TMP	K30	NA30	TE	AMC				I	1
NA30	TE	AMC	OF	F300				J	2
NA30	TE	AMC	OF					K	1
TMP	NA30	TE	OF					L	2
TMP	NA30	TE	AMC					M	1
NA30	TE	AMC						N	1
TE	AMC	OF						O	1
NA30	TE	OF						P	3
NA30	TE	F300						Q	1
TMP	NA30	TE						R	1
NA30	AMC	OF						S	1
TE	AMC							T	3
NA30	TE							U	1

Parmi les 21 profils d'antibiotypes obtenus dans notre étude, les plus répandus sont A, E, G, P et T.

L'antibiotype A : les souches de ce phénotype sont résistantes à 8 antibiotiques : chloramphénicol, triméthoprine, kanamycine, acide nalidixique tétracycline, amoxicilline-acide clavulanique, ofloxacin et nitrofurantoine. Elles sont isolées dans les sacs vitellins des poussins issus du bâtiment d'élevage n° 5 sis à Taourga, bâtiment d'élevage sis à Cherraba et

des œufs embryonnés issus du bâtiment n° 4 situé à Tiaret. Cela peut être expliqué par le fait que les œufs sont contaminés au niveau du couvoir par la même souche ou par la présence de cette souche dans ces trois régions différentes, ou encore au fait qu'il y ait plusieurs souches qui présentent le même phénotype.

L'antibiotype E : les souches de ce phénotype sont résistantes à six antibiotiques : triméthoprim, kanamycine, acide nalidixique, tétracycline, amoxicilline-acide clavulanique, ofloxacine. Elles sont isolées dans les sacs vitellins des poussins issus du bâtiment d'élevage de Lakrouf sis à Baghlia, et des œufs embryonnés issus du bâtiment n° 4 situé à Tiaret, du bâtiment d'élevage sis à Cherraba, du bâtiment d'élevage de Lakrouf sis à Baghlia et dans le bâtiment n° 5 sis à Taourga. Les mêmes explications que précédemment sont valables ici.

L'antibiotype G : les souches de ce phénotype sont résistantes à cinq antibiotiques : triméthoprim, acide nalidixique, tétracycline, amoxicilline-acide clavulanique, ofloxacine. Elles sont isolées dans les sacs vitellins des poussins issus du bâtiment d'élevage n° 5 sis à Taourga, bâtiment n° 4 sis à Tiaret, bâtiment de Lamraoui sis à Taourgaet à partir des œufs embryonnés issus du bâtiment d'élevage n°2 sis à Tiaret, bâtiment d'élevage de Boussaber sis à Dellys et bâtiment n° 5 sis à Taourga.

L'antibiotype P : les souches de ce phénotype sont résistantes à trois antibiotiques : acide nalidixique, tétracycline et ofloxacine. Elles sont isolées dans les sacs vitellins des poussins issus du bâtiment d'élevage n° 5 sis Tiaret, et à partir des œufs embryonnés issus des bâtiments d'élevages n°3 et n° 5 sis à Tiaret. Cette souche est donc probablement originaire de Tiaret.

Une co-résistance des souches isolées est mise en évidence vis-à-vis de triméthoprim, acide nalidixique, tétracycline.

Selon Courvallin (2008), la conséquence de cette organisation génétique est la co-sélection : une classe d'antibiotiques à laquelle la bactérie est résistante pourra sélectionner la résistance à des classes d'antibiotiques non reliées, engendrant ainsi un large phénotype résistant de la bactérie.

Ces souches peuvent transférer leur large phénotype d'antibiorésistance par transmission verticale à leur descendance et par transmission horizontale à des espèces différentes de bactéries via l'échange de matériel génétique, permettant la diffusion de ces profils et réalisant la transmission épidémique de cette multirésistance, d'une part. 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.

Van Den Bogaard *et al.* (2001) ont isolé des souches d'*E. coli* chez les humains qui travaillent en promiscuité avec des oiseaux, exprimant les mêmes antibiotypes que les souches aviaires. Cette trouvaille indique que la transmission de la résistance des souches aviaires aux souches humaines est possible.

.

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

Abraham EP., Chain E., 1940: An enzyme from bacteria able to destroy penicillin . Letters to the Editors, Lancet, Dec.5th .

Aguero ME., Aron L., Deluca AG., Timmis KN., Cabello, FC ., 1984 :A plasmid-encoded outer membrane protein, TraT, enhances resistance of Escherichia coli to phagocytosis. *Infection and Immunity*, 46, 740-746.

Ahmed Ammar Y., Aggad H., Hammoudi A., Kihal M., 2010: Antimicrobial Resistance of Escherichia coli Isolated from Chickens with Colibacillosis. *Global Vétérinaire* 4(3) : 303-306.

Alami M., Barret R., Brion JD., Enguehard-Gueiffia C., Foliot P., Gaudy C.,Gerondeau N., Gueffier A., 2005 : antibiotique : pharmacologie et thérapeutique.Collection pharma Elsevier.Page 269.

Avril J. L., Monteil H., Dobernat H ., Denis F., 2009 : Bactériologie Clinique.Edition ELLIPSE : 171, 172, 175, 208, 294 , 295 .

Babai r., Blum-Oehler G., Stern BE., hacher J., Ron EZ., 1997: virulence patterns fromsepticemic Escherichia coli O78 strains.FEMS Microbiol Lett, 149, 99-105.

Barnes HJ., Vaillancourt JP., Gross WB., 2003 : Colibacillosis. In B.W. Calnek(Ed.) Diseases of poultry/ edited by Y.M.Saif-11 th ed.(CH:18pp.631-656°;Ames,IA: Iowa State Press A Blackwell Publishing Company.

Baudry B., Savarino JS., Vial P., Kaper JB., Levie MM., 1990: A sensitive and specific DNA probe to identify enteroaggregative Escherichia coli, a recently discovered diarrheal pathogen.JInfect Dis, 161: 1249-1251.

Bettelheim KA., 1992: the genus Escherichia. In:Baloxs A., Trüpen H. G.,Dworkin M., Harden X., Schleifer K.H The prokaryotes. Springer-Verlag, New York, 2696-2736.

Beutin L., 1999: *Escherichia coli* as a pathogen in dogs and cats. *Vet Res*, 30:285-298.

Bhan MK., Raj P Levine MM, Kaper JB, Bhandari N, Srivastava R, KumarR., Sazawal S., 1989: Enteroaggregative *Escherichia coli* associated with persistent diarrhea in a cohort of rural children in India. *J Infect Dis*, 159: 1061-1064.

Blanco JE., Blanco M., Mora A., Blanco J., 1997a: Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. *J Clin Microbiol*, Vol 35, No. 8p.2184-2185.

Blanco JE., Blanco M., Mora A., Blanco J., 1997b : Production of toxins (enterotoxins, verotoxins, and necrotoxins) and colicins by VT strains isolated from septicemic and healthy chickens : relationship with in vivo pathogenicity. *J Clin Microbiol*, 35, 2953-2957.

Blanco JE., Blanco M., Mora A., Jansen WH., Garcia V., Vasquer ML., Blanco J., 1998 : serotypes of *Escherichia coli* isolated from septicemic chickens in Galicia (Northwest Spain). *Vet Microbiol*, 61 :229-235.

Borne PM., 1998 : les colibacilloses avicoles: des bactéries toujours à l'affût. *Afrique Agriculture*, 83.

Bree A., DHOM., LAFONT JP., 1989: comparative infectivity for axenic and specific pathogen free chickens of O2 *Escherichia coli* strains with or without virulence factors. *Avian Dis*, 33,134-139.

Brenner DJ.,Krieg BR.,Staley JT., Garrity GM.,2005: Bergey's manual of systematic bacteriology, second edition, vol.2(the proteobacteria),Springer New York.

Brugère-Picoux J., 1984: Diagnostic différentiel des affections respiratoires des volailles. *Rev médecine vét*, 1069-1078.

Bains, B. (1979): A Manual of Poultry Diseases. Roche Publishing, Switzerland. 6- Barrow, G.I; Feltham, R.K.A. (1993). Cowan and Steel's Manual for the identification of Medical Bacteria. 3rd Edition. Cambridge University Press., New York, USA.

Bouzagh T., 2010 étude rétrospective sur l'évolution du microbisme (*Escherichia coli* et salmonella) dans la filière chair dans la région du centre de l'Algérie, Thèse de magistère, ENSV,198 pages.

Chanter N., Hall GA.,Bland AP., Parkson KR., 1986: Dysentery in calves caused by atypical strain of strain of *Escherichia coli*. *Vet. Microbiol*. 12: 241-253.

Chanteloup Nk., Dho M., Esnault E., Bree A, Lafont J., 1991. Serological conservation and location of the adhesion of avian Escherichia coli type 1 Fimbriae. Microb. Paththo., 10:271-280.

Chen HD., Frankel G., 2005: Enteropathogenic Escherichia coli: unraveling pathogenesis. FEMS Microbiol. Rev. 29, 83-98.

Charles Dozois M., Chanteloup N., Vonne M., Dho-M., Bree A., Desantels C., and Fairbrother J.M . 1994 : Bacterial colonisation and vivo expression of F1 (type 1) Fimbrial antigens in chickens experimentally infected with pathogenic E.coli avian dis. 38, 231-239.

Claud S.S., Rosenbergerj K., Fries P.A., Wilson R.A., Odorem; 1986: In vivo and in vitro characterization of avian E.coli serotype. Metabolic activity and antibiotic sensitivity. Avian dis .29,1083-1093.

Chulasiri M., Suthienkul O., 1989: Antimicrobial resistance of Escherichia coli isolated from chickens. Vet Microbiol. 21, 189-194.

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

Croize J., 2005 : la résistance par Efflux, 1-33.

Darfeuille-Michaud A., Aubel D., Chauviere G., Bourges A., Servin A., Joly B., 1990: Adhesion of entérotoxigenic Escherichia coli to the human colon carcinoma cell line cacol in culture.Infect. Immun. 58, 893-902.

Dho-Moulin M., Van Den Bosch J.F., Girardeau JP., Barat T., Lafont JP., 1990: surface antigens from Escherichia coli O2 and O78 strains of avian origin. Tnfect.Immun., 1990, 58, 740-745.

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

Dhanjia, Michel Doumitha, Olivier Clermontb, Erick Denamurb, Russell Hopea, David M., Livermorea, Neil Woodforda, 2010: Real-time PCR for detection of the O25b-ST131 clone of

Escherichia coli and its CTX-M-15-like extended –spectrum lactamases. International Journal of Antimicrobial Agents 36(2010) 355-358.

Diffou H., 1997: Contribution à l'étude pharmacocinétique de la tilcosine chez le poulet avec un essai Clinique sur un cas de l'arthrite staphylococcique. These Doct.Vet.I .A .V. Hassan II, Rabat Maroc.

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., Chanteloup N., Dho-Moulin M., Bree A., Desautels C., Fairbrother JM., 1994 : Bacterial colonization and in vivo expression of F1 (Type 1) fimbrial antigens in chickens experimentally infected with pathogenic Escherichia coli. Avian Dis, 38, 231-239.

Dozois CM., Dho-Moulin M., Bree A., Fairbrother JM., Desautels C., Curtis III R., 2000: Relationship between the Tsh autotransporter and pathogenicity of avian Escherichia coli and localization and analysis of the genetic region. infect. immune 68, 4145-4154.

Dozois CM., Fairbrother JM., Harel J., Bosse M., 1992: Pap-and pil related DNA sequences and other virulence determinants associated with Escherichia coli isolated from septicemia chickens and turkeys. Infect. immun. 60, 2648-56.

Dozois CM., Pourbakhsh SA., Fairbrother JM., 1995: Expression of Pand type 1 (F1) Fimbriae in pathogenic Escherichia coli from poultry. Vet. Microbiol. 45, 297-309.

Elfadil AA., Vaillancourt JP., Meek AH., Juliane RJ., Gyles CL., 1996: Description of cellulitis lesions and associations between cellulitis and other categories of condemnation. Avian Dis, 40, 690-698.

Escherich T., 1885: Die Darmbacterium des Neugeborenen und Säugling. Fortschritte der Medizin. 3: 515.

Escobar-Paramo P., Giudicelli C., Denamur E., 2003 : the evolutionary history of Shigella and Enteroinvasive Escherichia coli revised J. Mol Evol. 57, 140-148.

Euzeby JP., 2005: Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. <http://www.bacterio.cict.fr/bac-deco/index.html>.

Fairbrother JM., Batisson I., Girard F., Mellata M., pérès S., 2002: Original text on E.coli. Animal Health and Production Compendium, CD-Rom CAB International.

Fairbrother JM., Ngeleka M: Extraintestinal Escherichia coli Infection in Pigs. In: GylesCL., 1994: Escherichia coli in domestic animals and humans. Oxon, Cab international: Wallingford, UK: CAB.

Fecteau G., Smith BP., George LW., 2009: Septicemia and meningitis in the newborn calf. Vet. Clin. North Am.Food.Anim.pract.25, 195-208.

Fenardji F., 1990: Organisation, performances et avenir de la production avicole en Algerie.institut de Développement des petits Elevages, L'aviculture en méditerranée.Option Méditerranéennes,Sér A,n°7.9 pages.

Galimant M., Sabtcheva S., Corvalin P., Lambert T., 2005: Worldwide disseminated armA aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn 1548. Antimicrob Agents Chemother. 49, 2949-2953.

Garnacho-Montero J., Ortiz- Leyba C., Jimenez- Jimenez FJ., Barrero-Almodovar AE, Gardia-Garmendia JL., Bernabeu-Wintell M., Gallego-Lara,SL.,Madrado-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.

Gay CC., Besser TE: septicaemia in calves.in: **Gyles CL., 1994:** Escherichia coli in domestic animals and humans.Oxon,Cab international: Wallingford pp. 75-90.

Gerardin J., Lalioui L Jacquemin E., Le Bouguenec C.,Mainil JG., 2000 : The afa-related gene cluster in necrotoxic and other Escherichia coli from animals belongs to the afa-8 variant.Vet.Microbiol.1945,1-10.

Ghebru H., 1988: contribution l'étude du pouvoir pathogène des Escherichia coli. Mémoire de maîtrise es sciences vétérinaires en microbiologie immunologie, Nantes.

Glunder G., 1990: Dermatitis in broilers caused by Escherichia coli: isolation of Escherichia coli from field cases, reproduction of the disease with Escherichia coli O78: K80 and conclusions under consideration of predisposing factors. J. Vet.Med.(B).37,383-391.

Goffaut F., China B., Janssen L., Mainil J., 2000: Genotypic characterization of Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) isolated in Belgium from dogs and cats. Res. Microbiol. 151:865-71.

Greathouse JS., Thorne GM., 1994: humoral immune responses to Shiga-like toxins and *Escherichia coli* O157 lipopolysaccharide in hemolytic-uremic syndrome patients and healthy subjects. J Clin Microbiol. 32, 1172-1178.

Grimont PAD., 1987: Taxonomie des *Escherichia*. Méd. mal infect (Numéro spécial). 17,6-10.

Gross 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.

Gross W.B. Calnek W., Barnes H.J., Beard C.W., Reid W.M., 1991: Colibacillosis. Disease of poultry 9th ed. Ames: Iowa University Press. 1991, 138-144.

Guérin J.P., Boissieu C., 2008 : les colibacilloses ou infections à *Escherichia coli*, ENV Toulouse.

Guérin J.L., Boissieu C., 2007: L'autopsie en pathologie aviaire, 1^{ère} partie : protocole d'autopsie et anatomie des volailles. Elevage et santé Avicoles et cunicoles- ENV Toulouse.

Gyles CL., 1994: *Escherichia coli* in domestic animals and humans. Cab international 649 pages.

Gyles CL., Fairbrother J.M., 2004: *Escherichia coli*. In B.W. Calnek (Ed), Pathogenesis of bacterial infections in animal / Edited by Carlton L. Gyles, John F Prescott, J. Glenn Songer, and Charles O. Thoen 3rd ed. 2004 (CH:16 pp.193-223). Ames, IA: Iowa State Press A Blackwell Publishing Company.

Gyles CL., Fairbrother J.M., 2010: *Escherichia coli*. In B.W. Calnek (Ed), Pathogenesis of bacterial infections in animal / Edited by Carlton L. Gyles, John F Prescott, J. Glenn Songer, and Charles O. Thoen 4th ed. 2010 (CH:15 pp.267-308). Ames, IA: Iowa State Press A Blackwell Publishing. H11 clonal complex. J. Clin. Microbiol. 8: 2989-2993.

Hammermuller J., Kruth S., Prescott J., Gyles C., 1995: Detection of toxin genes in *Escherichia coli* 217 *Escherichia coli* isolated from normal dogs and

Dogs with diarrhea. Can. J Vet. Res. 59:265-270.

Hammoudi A., Aggad H., 2008: Antibioresistance of *Escherichia coli* Strains Isolated from Chichen 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.

Herren CD., Mitra A., Palaniyandi SK., Coleman AE, Iankumaran S., Mukhopadhyaya S., 2006: The BarA-UvrY twocomponent system regulates virulence in avian pathogenic *Escherichia coli* O78: K80:H9. Infection and Immunity.74, 4900-4909.

Heuvelink AE., Zwartkruis-Nahuis JT., Van Den Biggelaar FL., Van Leewen WJ., E.De Boer E., 1999: isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. Int J Food Microbiol.52, 67-75.

Higgins PG., Fluit AC., Schmitz FJ 2003 : Fluoroquinolones: structure and target sites. Curr.Drug Targets 4(2), 181-190.

Huff GR., Huff WE., Balog JM., Rath NC., 1999: Sex differences in the resistance of turkeys to *Escherichia coli* Challenge after immunosuppression with dexamethasone. Poult Sc.78, 38-44.

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

Johnson TJ., Siek KE., Johnson SJ., Niolan LK., 2006: DNA sequence of a ColV plasmid and prevalence of selected plasmid encoded virulence genes among avian *Escherichia coli* strains. Journal of Bacteriology. 188, 745-758.

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

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

Kaper JB., Nataro JP., Mobley HL., 2004: Pathogenic *Escherichia coli*. Nat. Rev. Microbiol.2, 123-140.

Katwa LC., White AA., 1992 : Presence of functional receptors for the Escherichia coli heat-stable enterotoxin in the gastrointestinal tract of the chicken. *infect.immun.* 60, 3546-3551.

Kean BH., 1986: Traveler's diarrhea : an overview. *Rev.infect.Dis.* 8 Suppl 2: 111-116.

Kim TE., Jeong YW., Cho SH., Kim SJ., Kwon HJ., 2007: Chronological study of antibiotic resistances and their relevant genes in Korean avian pathogenic Escherichia coli isolates *J.Clin. Microbiol.* 45, 3309-3315.

La Ragione RM., Woodward MJM., 2002: Virulence factors of Escherichia coli serotypes associated with avian colisepticemia. *Res in Vet Sci.* 73, 27-35.

Lafont JP., Bree A., Plat M., 1984 : Bacterial conjugation in the digestive tracts of gnotoxenic chickens. *Appl Environ Microbiol* 47:639-642.

Lalioui L., Jouve M., Gounon P., Le Bouguenec C., 1999 : MOlecular cloning and characterization of the afa-7 and afa-8 gene clusters encoding afimbrial adhesions in Escherichia coli strains associated with diarrhea or septicemia in calves. *Infect. Imm.* 67, 5048-5059.

Lamarche MG., Dozois CM., Daigle F., Caza M., Curtiss R., 3rd, Dubreuil JD., Harel J., 2005: Inactivation of the pst system reduces the virulence of an avian pathogenic Escherichia coli O78 strain. *Infection and Immunity.* 73, 4138-4145.

Laving JP., 2007: Effets des antibiotiques et mécanismes de résistances, Facultés de Médecine Montpellier, p : 1-3.

Le Bouguenec C., Bertin Y., 1999 : Afa and F17 adhesins produced by pathogenic Escherichia coli strains in domestic animals. *Vet.Res.* 30, 317-342.

Levine MM., 1987: Escherichia coli that cause diarrhea. Enteropathogenic, Enteroinvasive, Enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J Inf Dis.* 155, 377-380.

Levine MM., Ferreccio C., Prado V., Cayazzo M., Abrego P., Martinez J., Maggi L., Baldini MM. Martin W., Maneval D., Kay B., Guers L., Lior H., Wasserman SS., Nataro PJ., 1993: epidemiologic studies of Escherichia coli diarrheal infections in a low socioeconomic level per-urban community in Santiago, Chile. *Am.J.Epidemiol.* 138, 849-869

Lecoanet., 1992: Colibacilloses aviaries, Dans manuel de pathologie aviaire, imprimerie. du cercle des élèves de l'école vétérinaire d'Alford. Ed par J.BRUGERE PICOUX et A. SLIM. :237-240 .

Li Lin a ., b., 1 Zhi-Gang Jiang a, 1, L-NingXiaa,c Jian- ZhougShen a, Lei Dai a, Yang Wanga, Si-Yang Huang a, Cong-Ming Wua., 2010: Characterization of anticicrobial resistance and molecular determinant of beta-lactamase in *Escherichia coli* isolated from chickens in China during 1970-2007.

Machado J., Grimont F., Grimont PAD., 1998 : Computer identification of *Escherichia coli* rRNA gene restriction patterns, Res.Microbiol. 149, 119-135.

MacLeod DL., Gyles CL., Wilcock BP., 1991: Reproduction of edema disease of swine with purified Shiga-like toxin-II variant. Vet. Pathol. 28, 66-73.

Mainil JG., Gerardin J., Jacquemin E., 2000 : Identification of the F17 fimbrial subunit- and adhesin encoding (F 17A and F17G) gene variants in necrotoxicogenic *Escherichia coli* from cattle, pigs and humans. Vet.Microbiol.73,327-335.

Mainil JG., Jacquemin E., Herault F., Oswald E., 1997: Presence of pap-, sfa-, and afa related sequences in necrotoxicogenic *Escherichia coli* isolates from cattle: evidence for new variants of the AFA family. Can.Vet.Res.61, 193-199.

McPeake SJ., Smyth JA., Ball HJ., 2005: Characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) associated with colisepticaemia compared to faecal isolates from healthy birds. veterinary Microbiology. 110, 245-253.

Mellata M., Dho-Moulin M., Dozois CM., Curtiss III R., Brown PK ., Bree A Desautels C., Fairbrother JM., 2003a: Role of virulence factors in resistance of avian pathogenic *Escherichia coli* to serum and in pathogenicity. *Infection and Immunity*. 536- 540.

Mellata M., Dho-Moulin M., Dozois CM., Curtiss III R., Lehoux B., Fairbrother IM., 2003b : Role of avian pathogenic *Escherichia coli* virulence factors in bacterial interaction with chicken heterophils and macrophages. *Infection and Immunity*. 71, 494-503.

Mellata M., Touchman JW., Cuttriss R., 2009 : Full sequence and comparative analysis of the plasmid pAPEC -1 of avian pathogenic *E.coli* chi7122(O78:K80:H9). PLoS ONE. ' : e4232.

MESSAI C., 2011: Frequence et profils d'antibiorésistance de souches E. Coli isolées de poulets de chair atteints de colibacillose à l'abattoir avicole de Sétif. Thèse Magister en Science vétérinaire. 69-77.

Milon A., Oswald E., De Rycke J., 1999: Rabbit EPEC: a model for the study of Enteropathogenic *Escherichia coli*. Vet. Res. 30, 203-219.

Moellering RC Jr., 1995: Pharmacokinetics of vancomycin. J. Antimicrob. Chemother. 14(Suppl.D): 43-52.

Mogenet L., Fedida D., 2004: Rational antibiotherapy in poultry against atypical Mycobacteria. J. Infect. Dis. 123(2), 216-219.

Moon BM., BM., Won GY., Choi YY., Jin JK., Oh IG., Park JH., Eo SK., Lee JH., 2006: Isolation and characteristics of avian pathogenic *Escherichia coli* from birds associated with colibacillosis Chulalongkorn Uni. Fac. of Vet. Sc., Bangkok, Thailand, Proceedings of AZWMP.

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

Mokady D, Gophna U, Ron EZ. Extensive genediversity in septicemic *E. coli* strains. J Clin Microbiol. 2005 Jan; 43(1): 66-73.

Nagy B., Fekete PZ., 1999: Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals Vet Res. 30, 259-284.

Nagy B., Fekete PZ., 2005: Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. In. J. Med Microbiol. 295, 443-454.

Nakamura K., Cook JK., Frazier JA., Narita M., 1992 : *Escherichia coli* multiplication and lesions in the respiratory tract of chickens inoculated with infectious bronchitis virus and/or *Escherichia coli*. Avian Dis. 36, 881-890.

Nataro JP., Kaper JB., 1998: Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev. 11, 142-201.

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

Naylor SW., Gally DL., Low JC., 2005: Enterohaemorrhagic E.coli in veterinary medicine. *Int. J. Med. Microbiol.* 295, 419-441.

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

Nolan LK., Horne SM., Giddings CW., Foley SL., Johnson TJ., Lynne AM., Skyberg J., 2003: Resistance to serum complement, iss and virulence of avian Escherichia coli. *Vet Res. Communications.* 27, 101-110.

Nolan LK., Wooley RE., Brown J., spears KR., Dickerson HW., Dekiche M., 1992a: Comparison of a complement resistance test, a chicken embryo lethality test, and the chicken lethality test for determining virulence of avian Escherichia coli. *Avian Diseases,* 36, 395-397.

Nolan LK., Wooley RE., Cooper RK., 1992b: Transposon mutagenesis used to study the role of complement resistance in the virulence of an avian Escherichia coli isolate. *Avian Diseases,* 36, 398-402.

Orskov F., Genus I., 1986: Escherichia Castellani and Chamers, 1919,441 AL.In: N.R.Krieg and J.G Hold (eds). *Bergey's manual of systematic bacteriology.* Vol 1, TheWilliams and Wilkins Co, Baltimore

Orskov F., Orskov I., 1992: Escherichia coli serotyping and disease in man and animals. *Can J Microbiol,* 38: 699-704.

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

Paquet- Bouchard C., 2006: Caractérisation moléculaire de la protein antibiotique P1 du phage AP205, maitrise en microbiologie-immunologie, Université Laval.

Parreira VR., Arns CW., YanoT., 1998: Virulence factors of avian Escherichia coli associated with swollen head syndrome. *Avian Pathol.* 27, 148-154.

Parreira VR., Gyles CL., 2002: Shiga toxin genes in avian *Escherichia coli*. *Veterinary Microbiology*. 87, 341-352.

Parreira VR., Gyles., 2003: A novel pathogenicity island integrated adjacent to the W tRNA gene of avian pathogenic *Escherichia coli* encodes a vacuolation autotransporter toxin. *Infection and Immunity*. 71, 5087-5096.

Parreira VR., Yano T., 1998: Cytotoxin produced by *Escherichia coli* isolated from chickens with swollen head syndrome(SHS). *Veterinary Microbiology*. 62,111-119.

Pfaff- McDonough SJ., Horne SM., Giddings CW.,Ebert JO., Doetkott C., Smith MH., Nolan LK., 2000: Complement resistance-relate traits among *Escherichia coli* isolates from apparently healthy birds and birds with colibacillosis. *Avian Dis* 44: 23-33.

Pilipcinec E., Tkacikova L., Naas HT., Cabadaj R.,Mikula I., 1999: Isolation of verotoxigenic *Escherichia coli* O157 from poultry. *Folia Microbiol*. 44, 455-456.

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

Pakpinyo, S., D. Ley, H.J. Barnes, J.P. Vaillancourt, and J.S. Guy. 2002. Prevalence of enteropathogenic *Escherichia coli* in naturally occurring cases of poult enteritis- mortality syndrome. *Avian Dis*. 46: 360-369.

Paterson, D.L., and Bonom, R., A., 2005: Extended spectrum beta-lactamases: a clinical update; *Clinical Microbiology Review.*, 18, 657-86.

Pourbakhsh SA., Boulianne M., Martineau- Doize B., Fairbrother JM., 1997a : Virulence mechanisms of avian fimbriated *Escherichia coli* in experimentally inoculated chickens.*Vet Microbiol*. 58, 195-213.

Pourbakhsh SA.,Dho-Moulin M., Bree A.,Desautels C.,Martineau Doize B., Fairbrother JM., 1997c: Localization of the in vivo expression of P and F1 fimbriae in chickens experimentally inoculated with pathogenic *Escherichia coli*.*Microbial Pathog*. 22, 331- 341.

Poyart C., 2003: Resistances des bactéries aux Antibiotiques, In: *Bactériologie générale*. P.C.E.M.2.Faculté de médecine Necker-Enfants malades, p : 1-89.

Provence DL., Curtiss III R., 1994 : Isolation and characterization of gene involved in hemagglutination by an avian pathogenic Escherichia coli strain. Infect. Immun. 1369-1380.

Richard C., 1989: Bactériologie et épidémiologie des souches typiques, atypiques et potentiellement pathogènes d'Escherichia coli. Information du Technicien biologiste 2 : 45-52.

Robineau B., Moalic PY., 2010: Une maladie d'actualité en production aviaire: La colibacillose. Bull. Acad.Vét. France. Tome 163-n°3.

Rodriguez-Siek KE., Giddings CW., Doetkott C., Johnson, TJ., Nolan, LK., 2005 : Characterizing the APEC pathotype. Vet.Res.36, 241-256.

Saberfar E, Pourakbari B., Chabokdavan K., Taj Dolatshahi F., 2008: Antimicrobial susceptibility of Escherichia coli isolated from Iranian broiler chicken flocks, 2005-2006. J Appl Poult Res. 17, 302-304.

Salvadori MR., Yano T., Carvalho HF., Parreirav R., CL., 2001: Vacuolating cytotoxin produced by avian pathogenic Escherichia coli. Avian Dis.45, 43-51.

Sanders P., 2005: L'antibiorésistance en médecine vétérinaire: enjeux de santé publique et de santé animale. Bull.Acad.Vét.France. Tome 158-N°2, 137-143.

.

Schwan WR., Lee JL., Lenard FA., Matthews BT., Beck ., 2002: Osmolarity and pH growth conditions regulate fim gene transcription and type 1 pilus expression in Uropathogenic Escherichia coli. Infect Immun, 70, 1391-1402.

Sköld O., 2001: Résistance to trimethoprim and sulphonamides. Vet Res, 32(3-4), 261-273.

Skyberg JA., Johnson TJ., Johnson JR., Clabots., Logue CM., Nolan, LK., 2006 : Acquisition of avian pathogenic Escherichia coli plasmids by a commensal E. coli isolate enhances its abilities to kill chicken embryos, grow in human urine, and colonize the murine kidney. Infection and Immunity. 74, 6287-6292.

Sojka WJ., Carnaghan RB A., 1961: Escherichia coli infection in poultry. Res.Vet Sci. 2,340-353.

Standardisation de l'Antibiogramme en médecine vétérinaire à l'Echelle Nationale, selon les recommandations de L'OMS, 4ème édition, 2008.

Stodeur P., Beaupain N., Mainil J., 2003: Caractérisation génotypique de souches invasives aviaries 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.

Stodeur 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.

Sukupolvi S., O'Connor D., Ma"kela" PH., 1987: The effects of tra T insertion mutations on detergent sensitivity and serum resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *FEMS Microbiology letters*. 43, 81-87.

Tankovic J., Duval J., 2007: Mécanismes d'action des antibiotiques in *Médecine thérapeutique*, Vol3, hors série, P :37-69.

Tenson T., Lovmar M., Ehrenberg M., 2003: The mechanism of action of macrolides, lincosamides and streptogramin B reveals the nascent peptide exit path in the ribosome. *J. Mol. Biol.* 330(5), 1005-1014.

Thomson K., S., et Molan E., S., 2000 : The new β - lactamases og Gram negative bacteria at the dawn of the new millennium. *Microbes and Infection*, 2, 1225-1253.

Tortura GJ.,Funke BR.,Case CL., 2003: Introduction à la Microbiologie. Adaptation française par Louis Martin, 7ème édition. Canada : Bibliothèque nationale du Canada, p 945

Vaillancourt JP., 2009: Une approche régionale à la biosécurité : l'exemple avicole ; *Bull . Acad Vét.* France Tome 162- N°3, p : 257-264.

Van Den Bogaard AE., London N.,Drissen C., Stobberingh EE.,2001: Antibiotic resistnce of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughteres. *J Antimicrob Chemother.*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.

Vidotto MC., Müller EE., De Freitas JC., Alfieri AA., Guimaraes IG., Santos DS., 1990: Virulence factors of avian Escherichia coli. Avian Diseases. 34, 531-538.

Villate D., 1997 : Maladies des volailles, Manuelle pratique, Edition France agricole, Paris, France.

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

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.

Wooley RE., Nolan LK., Brown J., Gibbs PS., Giddings CW., Turner KS., 1993: Association of K-1 capsule, smooth lipopolysaccharides, traT gene, and colicin V production with complement resistance and virulence of avian Escherichia coli. Avian Diseases. 37, 1092-1096.

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

Yogarathnam V., 1995 : Analysis of the causes of high rates of carcass rejection at a poultry processing plant. Vet. Res., 137, 215-217.

Zanella A., Alborali GL., Bardotti M., Candotti P., Guadagnini PF., Martino A.P., Stonfer M., 2000 : Severe Escherichia coli septicemia and polyserositis in hens at the start of lay. Avian Pathology. 29, 311-317.

Zhang W., Bielaszewska M., Bockemuhl J., Schmidt H., Scheut F., Karch H., 2000: Molecular analysis of H antigens reveals that human diarrheagenic Escherichia coli O 45 from swine postweaning diarrhea. Infect. Immun. 62, 4153-4159.

Zharai Salehi, Farashi Bonab, 2006: Antibiotic susceptibility pattern of *Escherichia coli* strains isolated from chickens with coli septicemia in Tabriz Province, Iran. *International Journal of Poultry Science* 5(7): 677-684.

Zhao S., Maurer J.J., Hubert S., De Villena J.F., McDermott P.F., Meng J., Ayers S., English L., White D.G., 2005 : Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates. *Vet. Microbiol.* 107, 215-224.

ANNEXE I

Tableau I : Tableau de lecture API 20 E

TESTS	COMPOSITIONS ACTIFS	QTE (mg/cup)	REACTIONS/ ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0.223	B-galactosidase (Ortho Nitro Phénil-βD-galactopyranosidase)	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	1.9	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé (2)
LDC	L-lysine	1.9	Lysine decarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
ODC	L-ornithine	1.9	Ornithine decarboxylase	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 pale/jaune	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	0.76	Uréase	Incolore/grisatre	Rouge/orangé (2)
TDA	Tryptophane	0.38	Tryptophane désaminase	TDA/ immédiat	
				jaune	Marron-rougeatre
IND	Tryptophane	0.19	Production d'indole	James/ immédiat	
				Incolore vert pale/jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	1.9	Production d'acétoïne (Voges Proskauer	VPI + VP/II/10 min	
				Incolore /rose pale	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 36-48 h d'incubation doit être considérée négative.
- (3) Lecture dans la cupule (zone aérobie).
- (4) La fermentation commence dans la partie inferieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.
- (5) Une légère coloration rose apparaissant après

ANNAXE II

Table de lecture : Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative en medecine vétérinaire pour enterobacteriaceae

Antibiotique	Charge du disque	Concentration critique (µg/ml)		Diamètre critique (mm)		remarques
		S	R	S	R	
Ampicilline	10 µg	≤ 8	≥ 32	≥ 17	≤ 13	
Amoxicilline	25 µg	≤ 4	≥ 16	≥ 21	< 14	
Amoxicilline/aci de clavulanique	20/10 µg	≤ 16/8	≥ 32/16	≥ 18	≤ 13	
Céfalotine	30 µg	≤ 8	≥ 32	≥ 18	≤ 14	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 rendu résistante à toutes les β-lactamines (sans tenir compte de leurs valeurs critiques).
Ceftiofur	30 µg	≤ 2	≥ 8	≥ 21	≤ 17	
Gentamicine	10 µg	≤ 4	≥ 16	≥ 15	≤ 12	
Kanamycine	30 µg	≤ 16	≥ 64	≥ 18	≤ 13	
Neomycine	30 UI	≤ 8	≥ 16	≥ 17	< 15	
Streptomycine	10 UI	≤ 8	≥ 16	≥ 15	< 13	La réponse pour la Neomycine est valable pour la Kanamycine
Acide nalidixique	30 µg	≤ 16	≥ 32	≥ 19	≤ 13	La réponse pour Acide nalidixique est valable pour la Fluméquine
Acide oxolinique	10 µg	≤ 2	≥ 4	≥ 20	< 17	Interprétation valable pour la fluméquine
Fluméquine	30 µg	≤ 4	≥ 8	≥ 25	< 21	Interprétation valable pour l'acide oxolinique
Acide nalidixique	30 µg	≤ 16	≥ 32	≥ 19	≤ 13	La réponse pour Acide nalidixique est valable pour la Fluméquine
Enrofloxacin	5 µg	≤ 0.25	≥ 2	≥ 21	≤ 16	La résistance aux fluoroquinolones est croisée entre les différentes molécules mais son niveau d'expression peut varier pour chaque molécule. Le dépistage des entérobactéries de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est réalisé par la mesure de la sensibilité à l'acide nalidixique. Si le diamètre autour du disque d'acide nalidixique (30 µg) est inférieur à 15 mm ou si la CMI est supérieure à 16 mg/l, il existe un risque élevé de sélection <i>in vivo</i> de mutants résistants aux fluoroquinolones. Pour les souches de salmonelles résistantes à l'acide nalidixique, une perte d'efficacité des fluoroquinolones est démontrée chez l'homme.
Marbofloxacin	5 µg	≤ 1	≥ 4	≥ 20	≤ 14	
Danofloxacin	5 µg	-	-	≥ 22	< 18	
Difloxacin	10 µg	-	-	≥ 26	< 20	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	≥ 32	≥ 18	≤ 12	Interdit chez les animaux producteurs de denrée alimentaire.
Nitrofurantoïne	300 µg	≤ 32	≥ 128	≥ 17	≤ 14	Interdit chez les animaux producteurs de denrée alimentaire.
Tétracycline	30 µg	≤ 4	≥ 16	≥ 19	≤ 14	Valable pour oxytétracycline, chlortétracycline et doxycycline.
Colistine	10 µg			≥ 11	≤ 10	Pour un diamètre < 17 mm, la mesure de la CMI est recommandée. Cette remarque est

						valable seulement si le laboratoire a vérifié que la distribution des diamètres habituellement mesurés est centrée sur 18-20 mm.
Sulfamides	300 µg	≤ 256	≥ 512	≥ 17	≤ 12	Interprétation valable pour les souches d'origine urinaires.
Triméthoprine	5 µg	≤ 4	> 8	≥ 16	< 12	Interprétation valable pour les souches d'origine urinaires.
Triméthoprine/ sulfaméthoxazole	1.25/ 23.75 µg	≤ 2/38	> 4/76	≥ 16	< 10	Interprétation valable pour les autres associations Triméthoprine-sulfamide.

- (1) En cas de mise en évidence d'une BLSE, la souche doit être considérée comme résistante à toutes les bêta-lactamines disponibles en médecine vétérinaire, à l'exception de l'association amoxicilline + acide clavulanique. Pour cet antibiotique, le résultat brut (S, I ou R) n'est pas soumis à cette règle d'interprétation. Néanmoins, l'efficacité *in vivo* de l'amoxicilline + acide clavulanique sur une souche possédant une BLSE n'est pas documentée en médecine vétérinaire.
- (2) En cas de mise en évidence d'une céphalosporinase haut-niveau, la souche doit être considérée comme résistante à toutes les bêta-lactamines disponibles en médecine vétérinaire.

ANNEXE III

Composition des milieux utilisés :

1) Milieu d'enrichissement :

BHIB (BRAIN HEART INFUSION BROTH) :

- Coeur de bœuf 5g
- Cerveille de veau 12,5g
- Glucose 2g
- Peptone 10g
- Chlorure de sodium 5g
- Sodium dihydrogenophosphate 2,5g
- Eau distillée 1L
- pH=7,4

2) Milieus d'isolement :

a- TSI (TRIPLE SUGAR IRON):

La gélose TSI est un milieu d'identification rapide des 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
- Proteose peptone 5g
- Extrait de viande 3g
- Extrait de levure 3g
- Glucose 1g
- Saccharose 10g
- Lactose 10g
- Citrates 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 phenol 2,5g
- Eau distillée 1L

- pH=6,7

ANNEXE III : Suite

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 peuvent être rondes avec un précipité opaque de sels biliaires.

Composition :

- | | | |
|-----------------|------|-----|
| • Gelysate | 17g | |
| • Polypeptone | 3g | |
| • Lactose | | 10g |
| • Sels biliaire | 5g | |
| • Gélose | 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 antibiogramme :**

Muller 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 IV

CONTROLE DE QUALITE

Les milieux, galeries et réactifs font l'objet de contrôles de qualité systématiques aux différentes étapes de leur fabrication. Un contrôle bactériologique des tests de la galerie est de plus réalisable par l'utilisateur avec la souche

1. *Escherichia coli* ATCC® 25922 de préférence ou des souches suivantes :
2. *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 51331
3. *Enterobacter cloacae* ATCC 13047
4. *Proteus mirabilis* ATCC 35659
5. *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* ATCC 35657

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO ₂	N ₂ *
1.	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-
2.	+	-	V	-	V	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.	+	+	-	V	+	-	-	-	-	+	-	+	+	V	+	+	+	+	+	+	+	-
4.	-	-	-	+	V	+	+	+	-	-	V	+	-	-	-	-	V	-	-	-	+	-
5.	+	-	+	-	+	-	V	-	-	V	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V

- Le stade N₂ peut être observé pour la souche ATCC 25922.
- Profil obtenu après 18-24 h d'incubation pour les souches ATCC 51331, à partir de colonies cultivées sur gélose Trypcase soja + sang.
- Profils obtenues après 18-24 h d'incubation pour les autres souches, à partir de colonies cultivées sur gélose Trypcase soja + sang.
- Suspension bactérienne préparée en API NaCl 0,85% Medium.

ANNEXE V

Contrôle de qualité interne

Un contrôle de qualité interne doit être organisé pour s'assurer de la validité des résultats obtenus. Les souches de référence recommandées sont les suivantes : *Staphylococcus aureus* CIP 76,25 (ATCC259223), *Escherichia coli* CIP 76,24 (ATCC 25922), *streptococcus uberis* CIP 103219 (ATCC19436) et *pasteurella multocida* CIP 103286 (ATCC 43137).

Tableau II : limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose (moyennes +/- 1 écart type calculé sur minimum de 600 tests)

Antibiotiques	Charge du disque	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 76,25	<i>Escherichia coli</i> CIP 76,24	<i>Streptococcus uberis</i> CIP 103219	<i>Pasteurella multocida</i> CIP 103286
Pénicilline G	6 µg (10 UI)	35-40		35-40	
Oxacilline	5 µg			30-38	
Amoxicilline	25 µg		22-27		31-37
Amoxicilline + Ac. Clavulanique	20/10 µg		22-26		31-37
Céfalotine	30 µg		18-22		
Céfoxitine	30 µg	28-33	25-31		28-34
Ceftiofur	30 µg		27-32	35-40	33-40
Céfuroxime	30 µg		24-28		
Cefopérazone	30 µg				
Céfalexine	30 µg			31-37	
Gentamycine	500 µg			23-29	
Gentamycine	15 µg (10 UI)	26-31	23-29		
Kanamycine	30 µg	23-27	19-25		
Neomycine	30 µg	24-28	19-25		
Acide nalidixique	30 µg		24-29		
Enrofloxacin	5 µg		30-37		30-36
Marbofloxacin	5 µg	26-31			30-36
Triméthoprim+sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	26-30	24-28	20-25	
Erythromycine	15 µg	26-31		28-34	
Spiramycine	100 µg	23-28		28-33	
Tylosine	30 µg	21-25		22-27	
Tilmicosine	15 µg				16-23
Lincomycine	15 µg	27-32		30-37	
Florfenicol	30 µg		22-26		30-36
Tétracycline	30 µg	27-32		25-31	24-30
Acide oxolinique	10 µg				23-30

ANNEXE VI



Figure I : réactifs additionnés pour la lecture de la galerie API 20 E après incubation (photo personnelle)



Figure II : milieux utilisés : TSE, BHIB, Urée-indole, gélose nutritive (photo personnelle).

ANNEXE VI : Suite



Figure III : Colorants utilisés pour la coloration de Gram + l'huile à émersion à gauche (photo personnelle).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
17	SAV101	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S			
18	BIT DE3	S	S	S	S	S	R	R	S	I	S	S	S			
19	BIT DE3	S	R	S	R	S	R	R	S	I	S	S	S			
20	BIT VV3	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S			
21	CHIR33 DE	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S			
22	BS VV3	R	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S			
23	BIT DE3	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S			
24	BOUSS VV1	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S			
25	BOUSS DE	S	R	S	S	S	R	R	S	I	S	S	S			
26	BIT VV1	S	S	S	S	S	R	R	I	I	S	S	S			
27	BS VV3	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S			
28	MATEL VV1	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S			
29	BS POL1	S	R	S	S	S	R	R	I	R	S	S	S			
30	BS VV2	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S			
31	BS DE2	S	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S			
32	MATEL VV2	S	S	S	S	S	R	R	I	R	I	S	S			
33	MATEL VV2	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S			
34	BUTR2 DE2	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S			
35	CHIR33 DE	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S			
36	LAK VV3	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S			
37	BS DE6	S	R	S	S	S	R	R	R	R	I	S	S			
38	BS DE1	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S			
39	LAK DE2 II	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S			
40	LAK DE2 I	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S			
41	CHIR33 DE	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S			
42	BUTR2 DE2	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S			
43	BUTR2 VV2	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S			

Figure IV : Matériel utilisé pour le traitement des résultats (Excel 2007) (photo personnelle)

ANNEXE VII

Tableau III : liste des antibiotiques testés et leurs abréviations.

Nom de l'ATB testé	Chloramphénicol	Triméthoprim	Gentamycine	Kanamycine	Colistine	Acide nalidixique	Tétracycline	Amoxicilline + acide clavulanique	Oxfloracine	Céphalotine	Céftiofur	nitrofurantoine
Abréviation	C30	TMP	CN10	K30	CT10	NA30	TE	AMC	OF	CF	XNL	F300

Tableau IV : résultats de notre étude

PRELEVEMENTS	C30	TMP	CN10	K30	CT10	NA30	TE	AMC	OF	CF	XNL	F300
CHERA3 VV	R	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	R
LAMR VV1	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S
CHERA2 VV	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S
TIARET OE	S	R	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S
TIARET VV	S	R	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S
LAK OE1	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S
B4TB1 VV1	S	R	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S
CHERA1 VV	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S
LAK VV1	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S
B3T OE	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	S
B1T VV1	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S
CHERA1 OE	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S
TIARET2 VV	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S
B5 VV1	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S
B5T OE1	S	S	S	S	S	R	R	S	I	S	S	S
B4TB2 OE1	R	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	R
B3T OE3	S	S	S	S	S	R	R	S	I	S	S	S
B4TB1 OE1	S	R	S	R	S	R	R	I	R	S	S	S
B3T VV3	S	R	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S
CHERA3 OE	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S
B5 VV6	R	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	R
B4T OE1	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S
BOUSS VV1	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S
BOUSS OE	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S

B5T VV1	S	S	S	S	S	R	R	S	I	S	S	S
B5 VV5	S	R	S	S	S	R	R	I	I	S	S	I
B4TB2 VV1	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S
B5 PCR F	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S
B5 VV2	S	R	S	S	S	R	R	I	R	S	S	R
B5 OE2	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S
B4TB1 VV2	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	I
B4TB2 VV2	S	R	S	R	S	R	R	I	R	I	S	S
B3TB2 OE2	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S
CHERA4 OE	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R
LAK VV2	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S
B5 OE6	S	R	S	S	S	R	R	R	R	I	S	R
B5 OE1	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S
LAK OE2 II	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S
LAK OE2 I	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S
CHER4 VV	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R
B4TB2 OE2	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S
B3TB2 VV2	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S

