

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**ISOLEMENT, IDENTIFICATION ET ANTIBIOGRAMME DES
SOUCHES *E. COLI* RESPONSABLES DE LA COLIBACILLOSE
AVIAIRE DANS QUELQUES ELEVAGES SITUÉS DANS LA
WILAYA DE TIZI OUZOU**

Présenté par : BELHEND SALIHA

BABA AROUDJ LOUBNA

Soutenu le : 11 Octobre 2018

Devant le jury composé de:

- Président : KHELEF, D
- Promoteur : MESSAI, CR
- Examineur 1: ABED, M
- Examineur 2 : YEHYAOUI, WI

Professeur
Maitre de Conférences classe B
Maitre de Conférences classe B
Maitre Assistante classe A

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents *Thoraya* et *Nour Eddine*, Pour votre soutien durant toutes ces années, et pour vous remercier de ce que je suis aujourd'hui, un peu grâce à moi et beaucoup grâce à vous. Merci de m'avoir toujours soutenue dans les moments heureux mais surtout dans les moments plus difficiles et d'avoir toujours cru en moi. Je vous aime tendrement.

A ma grand-mère *Saliha* que dieu te bénisse.

A mon frère *Hatem*.

A ma sœur *Kholoud*.

A ma tante *Fairouz*.

A mon cousin *Ashraf* et ma cousine *Soundos*.

A tous mes oncles et tantes et tous les cousins et cousine.

A monsieur *Takfarinas Idres* : Merci beaucoup monsieur.

A ma binôme : *Loubna*.

A mes amies : *Fatima, Nada, Afaf, Roufaida, Rania, Louiza, Safia, Sisi, Chahra, Les collatrices, Wafa, Radhia, Marwa, Amel, Houda, Mouna, Sabah, Chaima*.

A tous les autres amis et connaissances que je n'ai pas nommés mais qui m'ont tous apporté leur amitié, leur soutien et leur patience.

A vous-même

SALIHA ☺

Dédicaces

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; **maman que j'adore.***

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que le dieu te garde dans son vaste paradis, **à toi mon père.***

*A mes chers frères **Halim, Mohamed, Sid ahmed, Adem.***

*A mes chères amies, **Marya, Khadidja, Meriem** en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble*

*A ma chère amie qui m'a encouragé m'a aidée et je lui souhaite une vie pleine de bonheur **Saliha***

*A mon cher mari **Yakoub***

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin.

Loubna

Remerciements

Nous remercions **ALLAH** tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté, et de nous avoir bénie jusqu'à la réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre **promoteur** MESSAI CHAFIK REDHA (Maitre de conférences classe B à l'ENSV) qui a accepté d'encadrer ce modeste travail. Nous vous remercions davantage pour, votre disponibilité, votre gentillesse sans oublier vos qualités scientifiques, votre simplicité.

Nous ne pouvons, Monsieur, que sincèrement vous exprimer notre respect et gratitude.

A notre président du jury : Dr khelaf Djamel professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider notre jury. Votre esprit scientifique nous a profondément marqué, veuillez accepter en retour nos sincères remerciements et nos considérations.

Dr Abed Mouna : Maitre de conférences classe B à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, C'est avec plaisir que vous avez accepté de participer à notre jury. Vos qualités d'enseignante et votre esprit nous a toujours fascinés. Veuillez trouver ici l'assurance de notre sincère gratitude et notre profond respect.

Dr Yahyaoui Wafa Ilhem : Maitre assistante classe A à l'Ecole Nationale Vétérinaire, que nous remercions d'avoir bien voulu faire partie de notre jury, veuillez trouver ici l'assurance de notre sincère gratitude et notre profond respect.

Nous tenons à remercier aussi l'agent de la bibliothèque de l'ENSV: Yassine.

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

Résumé

La colibacillose aviaire est à la fois une maladie grave (les symptômes qu'elle entraîne peuvent provoquer la mort d'un grand nombre d'animaux ou leur élimination après abattage suite à des lésions entraînant la saisie de la carcasse) et une maladie répandue (souvent citée comme la maladie la plus fréquente en élevage de poulet chair).

Elle est la source de pertes économiques majeures en élevage avicole, de par les saisies en abattoir ainsi que les retards de croissance, le taux de mortalité et les frais d'antibiothérapie.

L'objectif de cette étude est d'isoler la bactérie *Escherichia coli* de poulets de chair présentant des lésions de colibacillose, d'évaluer la fréquence d'antibiorésistance de ces souches vis-à-vis de 12 molécules d'antibiotiques ainsi que le pourcentage des multirésistances.

Pour cela, à partir de 40 foies d'animaux malades, nous avons isolé 30 souches d'*E. coli* sur deux milieux de géloses différentes Mac Conkey et Hektoen après enrichissement sur milieu BHIB. Nous les avons ensuite identifiées biochimiquement sur milieu TSI et Urée-Indole et à l'aide du système Api 20 E. L'antibiogramme a été effectué selon la méthode de diffusion de disques sur gélose Muller Hinton selon les normes du NCLLS recommandées par l'OMS.

Nos résultats montrent des taux élevés pour les tétracyclines et acides nalidixiques avec un taux de (100%), l'Ampicilline et l'Enrofloxacin (86,66%), la Triméthoprime /Sulfaméthoxazole avec un taux de (83,33%). Des pourcentages moyens sont retrouvés pour la Amoxicilline/ Acide clavulanique, Néomycine et le Nitrofurane, et de faibles fréquences de résistance pour le chloramphénicol, Céfotaxime, la Gentamicine et la colistine sulfate.

Il n'existe aucune souche qui ne soit résistante à aucun antibiotique.

70,00 % des souches sont résistantes à au moins quatre antibiotiques.

Il n'existe pas de souches qui sont résistantes à 12 antibiotiques.

Ces résultats élevés peuvent être expliqués par l'utilisation abusive et anarchique des antibiotiques, sans recours préalable à l'antibiogramme.

En conclusion, il ressort de cette étude que les antibiotiques sont de moins en moins efficaces contre les colibacilles. Il est plus que jamais nécessaire de systématiser l'antibiogramme avant chaque traitement afin de prescrire la molécule de choix, et de penser à des alternatives aux antibiotiques.

Mots clés : colibacillose, poulets de chair, *E. coli*, antibiotiques, multirésistance.

Abstract

Avian colibacillosis is both a serious disease (the symptoms it causes can lead to the death of a large number of animals or their elimination after slaughter following carcass seizures) and major disease (often cited as the most common disease in broiler poultry).

It is the source of major economic losses in poultry industry, as a result of slaughterhouse seizures, as well as growth retardation, mortality and antibiotic treatment costs.

The objective of this study is to isolate *Escherichia coli* from broilers with lesions of colibacillosis, and evaluating the frequency of antimicrobial resistance strains 12 molecules of antibiotics and the percentage of multiresistance.

For this, from 40 livers of infected animals, we isolated 30 strains of *E.coli* on MacConkey and Hektoen agar after enrichment on BHIB environment. Then we identified and biochemically on TSI Urea indole medium and using the API system 20 E. Antimicrobial susceptibility was performed according to the disk diffusion method on Muller Hinton agar according NCLLS standards recommended by the WHO.

Our results show high levels for tetracyclines and nalidixic acid with a rate of (100%) , ampicillin and enrofloxacin with similar rate (86,66%), triméthoprim / Sulfamethoxazole with a rate of (83,33%) .Des average percentages are found to amoxicillin/ Ac clavulanic, neomycin and Nitrofurane and low frequency resistance to chloramphenicol, Cefotaxime, gentamicin, and colistin.

There is no strain which is not resistant to any antibiotic.

70, 00% of strains are resistant to at least four antibiotics.

There is no strain which is resistant to 12 antibiotics.

These high results can be explained by the abusive and indiscriminate use of antibiotics, without prior recourse to the antibiogram.

In conclusion, it appears from this study that antibiotics are becoming less effective against *E. coli*. It is more than ever necessary to systematize susceptibility testing before each treatment to prescribe the molecule of choice, and think of alternatives to antibiotics.

Key words: colibacillosis, antibiotics, multiresistance, *E. coli*, broilers.

ملخص

داء العصيات القولونية الطيور هو مرض خطير (الأعراض التي يسببها يمكن أن تؤدي إلى موت عدد كبير من الحيوانات أو اقصائها و القضاء عليها بعد الذبح) ومرض واسع الانتشار (غالبا ما يشار إليها على أنها أكثر الأمراض شيوعا في دجاج التسمين).

وهو مصدر لخسائر اقتصادية رئيسية في تربية الدواجن، نتيجة لاقصاءات المجازر، فضلا عن تأخر النمو و الوفيات وتكاليف المضادات الحيوية.

الهدف من هذه الدراسة هو عزل البكتيريا القولونية « اشيريشيا كولي *E. coli* » من الدجاج اللاحم و تقييم مدى حساسية هذه السلالات للمضادات الحيوية المقاومة المتعددة من هذه السلالات ل 12 جزيئات.

لهذا الغرض، تم عزل 30 سلالة القولونية من 40 كبد من الحيوانات المصابة، على كل من ماكونكي و ايكوتوان أجار بعد التخصيب على البيئة BHIB. بعد حضانة 18 سا في درجة حرارة مئوية 37 تم استخدام نظام API 20 E. بعد حضانة 18 سا في 37 درجة مئوية. تم إجراء اختبار الحساسية وفقا لطريقة نشر القرص على أجار مولر هينتون حسب المعايير NCLS التي أوصت بها منظمة الصحة العالمية.

نتائجنا تظهر معدلات مرتفعة للالتتراسيكلين وحمض الناليديكسيك بمعدل (100%) ، الأميسيلين، الانروفلوكساسين (86,66%) ، ترميتوبريم-السلفاميثوكسازول_ بمعدل (83,33%) . تم العثور على النسب المئوية متوسطة لأموكسيسيلين / حمض كلا فولينيك، النيوميسينو، نتروفيران ، وانخفاض معدل المقاومة لالكلورامفينيكول، سيفوتاكسيم، جنتاميسين، وكوليستين.

لا توجد أي سلالة ليست مقاومة لأي مضاد حيوي.

70,00% من سلالات مقاومة لأربع مضادات حيوية على الأقل.

لا توجد أي سلالة مقاومة لاثني عشر مضادا حيويا معا.

في الختام، يبدو من هذه الدراسة أن المضادات الحيوية أصبحت أقل فعالية ضد العصيات القولونية. وهذا يدفع أكثر من اللازم من أي وقت مضى لتنظيم اختبار الحساسية قبل كل علاج، والتفكير في بدائل للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: داء العصيات القولونية، دجاج اللاحم، والمضادات الحيوية، المقاومة المتعددة.

Liste des abréviations

% : pourcentage
< : Inferieur
> : Supérieur
° : Degré
°C : Degré Celsius
μ : micron
μg : microgramme
μm : micromètre
ADN : Acide désoxyribonucléique
AEEC: Attachement effacement *E.coli*
AGP: Antibiotic growth promotors
APEC : *Escherichia coli* pathogènes aviaires
Api 20 E : Api 20 Entérobactéries
ARF : Antibiotiques régulateurs de flore
ARNt : Acide ribonucléique de transfert
ATB : Antibiotique
ATCC : American Type Culture Collection
CMI : Concentration minimale d'inhibition
E. coli : *Escherichia coli*
EAEC: Enéro- adhérent *E.coli*
ECAD : *E. coli* à adhésion diffuse
ECEAg : *E. coli* entéroagrégatifs
ECEH : *E. coli* entérohémorragiques
ECEI : *E. coli* entéroinvasifs
ECEP : *E. coli* entéropathogènes
ECET : *E. coli* entérotoxinogènes
ExPEC : *E. coli* pathogènes Extra intestinale
GEI : Gastro-entérite Infantile
Gram- : Gram négative
I : Intermédiaire
LPS : Lipopolysaccharide
Mc Farland : Mac Farland
mg : milligramme
ml : millilitre
mm: millimètre
mn : minute
p: Seuil de signification
pH: potentiel hydrotroène
PLP : Protéine Liaison Pénicilline
R : Résistant
S : Sensible
SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique
Sit : Salmonella iron transport
Spp : sous espèce
STEC : SHIGA toxine *E. coli*
Stg : fimbriae salmonella typhimurium genome
Stx : Shiga toxine
Tsh : Temperature sensitive hemagglutinin

VT : Vérotoxines

X 1.000 : Grossissement fois mille

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N° **Page**

Partie bibliographique

01	Caractères biochimiques différentiels du genre <i>Escherichia</i> et genres d' <i>Enterobacteriaceae</i> proches.....	03
02	Principaux pathovars d' <i>E. coli</i>	06
03	Principaux pathovars et facteurs de virulence d' <i>E. coli</i> causant la maladie chez l'espèce aviaire.....	08
04	Diagnostic différentiel de la colibacillose aviaire.....	14

Partie expérimentale

05	Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme.....	40
06	Application des disques d'antibiotique par boîte de pétri.....	43
07	Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches <i>E. coli</i>	45
08	Fréquence de multirésistance dans notre étude et pour divers auteurs.....	47
09	Pourcentages de multirésistances des souches <i>E. coli</i> aux antibiotiques.....	52

LISTE DES FIGURES

Figure N°		Page
Partie bibliographique		
01	Différents modes d'action des antibiotiques.....	20
02	Inactivation enzymatique des antibiotiques par les β -lactamases.....	24
03	Excrétion de l'antibiotique par efflux actif.....	25
Partie expérimentale		
04	Prélèvements d'organes dans les pots stériles.....	28
05	Etuis de disques imprégnés d'antibiotiques.....	29
06	Lésion d'aérosacculite.....	32
07	Péricardite avec dépôt fibrineux.....	32
08	Carcasse présentant de la périhépatite.....	33
09	Foie découpé stérilement en petits dés.....	34
10	Enrichissement des organes.....	34
11	Aspect des colonies <i>E.coli</i> sur gélose Mac conkey.....	35
12	Tubes du milieu TSI.....	37
13	Galerie API 20 E après incubation et ajout des réactifs.....	40
14	Pourcentage des souches isolées lors de notre étude.....	44
15	Pourcentages de résistances des souches <i>E.coli</i>	46
16	Pourcentages des multirésistances des souches <i>E.coli</i> isolées.....	53



Sommaire

SOMMAIRE

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : BACTERIOLOGIE GENERALE.....	2
I. Introduction.....	2
II. Historique.....	2
III. Définition.....	2
IV. Caractères bactériologique.....	2
IV.1. Souches typiques d' <i>Escherichia coli</i>	2
IV.1.1. Caractères morphologiques	3
IV.1.2. Caractères cultureux	3
IV.1.3. Caractères biochimiques.....	3
IV.2. Souches atypiques d' <i>Escherichia coli</i>	4
V. Propriétés antigéniques.....	4
V.1. Les antigènes somatiques O.....	4
V.2. Les antigènes flagellaires H.....	4
V.3. Les antigènes capsulaires K.....	5
V.4. Les antigènes de surface F.....	5
VI. Habitat, pouvoir pathogène naturel et facteurs de pathogénicité.....	5
VI.1 Chez l'homme.....	6
VI.2. Chez les animaux.....	7
VI.2.1. ETEC.....	7
VI.2.2. STEC.....	7
VI.2.3. EPEC.....	7
VI.2.4. ExPEC	7
CHAPITRE II : LES INFECTIONS A <i>ESCHERICHIA COLI</i>.....	9
I. Introduction.....	9

II. Historique	9
III. Définition.....	9
IV. Importance économique et sanitaire.....	10
V. Etiologie.....	10
VI. Epidémiologie.....	10
VII. Pathogénie.....	11
VIII. L'expression clinique	11
VIII.1. Mortalité embryonnaire du jeune poussin	11
VIII.2. Maladie respiratoire chronique et septicémie	12
VIII.3. Le syndrome de la grosse tête.....	12
VIII.4. La cellulite (ou dermatite nécrotique).....	12
VIII.5. Infection du tractus génital (ovarites et salpingites).....	13
VIII.6. Arthrites et synovites.....	13
VIII.7. La coligranulomatose (ou maladie de Hjarre).....	14
VIII.8. Entérites.....	14
IX. Diagnostic.....	14
IX.1. Clinique.....	14
IX.2. Diagnostic différentiel.....	14
X. Traitement.....	15
XI. Prophylaxie.....	15
XI.1. Sanitaire.....	15
XI.2. Médicale.....	16
CHAPITRE III : LES ANTIBIOTIQUES ET LES ANTIBIORESISTANCES.....	17
I. Les antibiotiques.....	17
I.1. Introduction.....	17
I.2. Historique.....	17
I.3. Définition.....	17

I.4. Caractéristiques.....	18
I.4.1. Toxicité sélective.....	18
I.4.2. Spectre d'activité.....	18
I.4.3. Activité antibactérienne.....	18
I.5. Classification.....	18
I.6. Mode d'action des principales familles d'antibiotiques.....	19
I.7. Les antibiotiques en médecine vétérinaire.....	20
I.7.1. Usage des antibiotiques.....	20
I.7.2. Impact de l'antibiothérapie dans les élevages avicoles	21
II. L'antibiorésistance.....	21
II.1. Introduction.....	21
II.2. Historique.....	21
II.3. Définition.....	22
II.4. Types de résistance.....	22
II.4.1. La résistance naturelle.....	22
II.4.2. La résistance acquise.....	22
II.5. Biochimie de la résistance.....	22
II.5.1. Résistance croisée.....	22
II.5.2. Co-résistance.....	23
II.6. Mécanismes biochimique de la résistance aux antibiotiques.....	23
II.6.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	23
II.6.1.1. β - lactamases.....	23
II.6.1.2. Enzymes inactivant les aminosides, le chloramphénicol et les macrolides.....	24
II.6.2. Modification de la cible.....	24
II.6.3. Diminution de la perméabilité.....	25
II.6.4. Excrétion de l'antibiotique par efflux.....	25
II.7. Mécanisme génétique de la résistance.....	25

II.8. Conséquence de la résistance aux antibiotiques.....	26
II.9. Conclusion.....	26

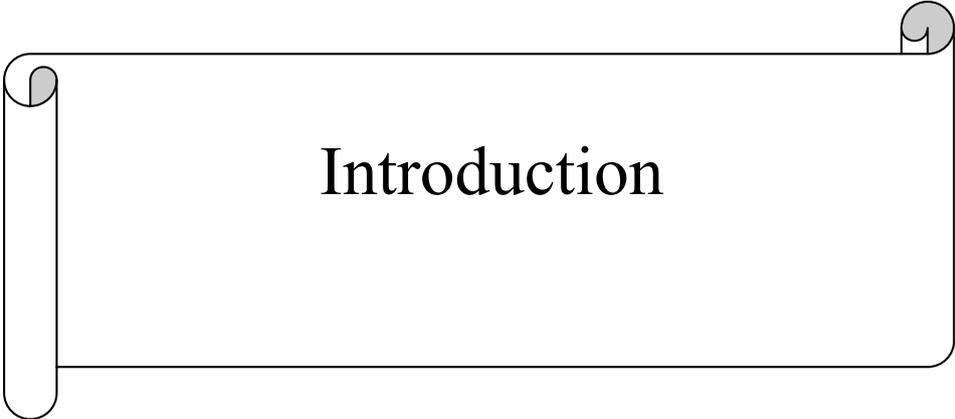
PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

I. Objectifs.....	28
II. Lieu et période de l'étude.....	28
III. Matériel et méthodes.....	28
III.1. Matériel.....	28
III.1.1. Echantillonnage et prélèvement.....	28
III.1.2. Milieux de culture.....	29
III.1.3. Produits de laboratoire	29
III.2. Méthodes.....	30
III.2.1. Conduite expérimentale.....	30
III.2.2. Autopsie.....	31
III.2.3. Lésions.....	31
III.2.3.1. Aérosacculite.....	31
III.2.3.2. Péricardite.....	32
III.2.3.3. Perihépatite.....	33
III.2.4. Bactériologie.....	33
III.2.4.1. Isolement des <i>Escherichia coli</i>	34
III.2.4.1.1. Enrichissement.....	34
III.2.4.1.2. Ensemencement.....	35
III.2.4.2. Identification des <i>Escherichia coli</i>	35
III.2.4.2.1. Identification morphologique.....	35
III.2.4.2.2. Identification biochimique.....	36
III.2.4.2.2.1. Test des 3 sucres (TSI).....	36
III.2.4.2.2.2. Test d'urée et indole	37
III.2.4.2.3. Identification biochimique par API 20 E.....	38

a) Objectif.....	38
b) Principe.....	38
c) Mode opératoire.....	38
c-1. Préparation de la galerie.....	38
c-2. Préparation de l'inoculum.....	39
c-3. Inoculation de la galerie.....	39
d). Lecture de la galerie.....	39
e). Interprétation de la galerie.....	40
III.2.4.3 AntibioGramme.....	40
III.2.4.3.1. Principe.....	41
III.2.4.3.2. Technique.....	41
A- Inoculum.....	42
B- Ensemencement.....	42
C- Application des disques d'antibiotiques.....	42
D- Incubation.....	43
III.2.4.3.3. Lecture	43
III.2.4.4. Analyse statistique.....	43
 RESULTATS ET DISCUSSION	
I. Rappel de l'objectif.....	44
II. Bactériologie.....	44
II.1. Isolement et identification des <i>E. coli</i>	44
II.2. AntibioGramme.....	45
II.3. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques.....	48
II.2.1.1. Les β -lactamines.....	48
II.2.1.2. Les tétracyclines.....	48
II.2.1.3. Les quinolones.....	49
II.2.1.4. Les sulfamides.....	50
II.2.1.5. Les aminosides.....	50
II.2.1.6. Les polypeptides.....	51

II.2.1.7. Les phénicolés.....	51
II.2.1.8. Les furanes	52
II.4. Les multirésistances.....	52
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

A horizontal scroll graphic with a white background and a black outline. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges showing a slight curve. The word "Introduction" is written in a black serif font in the center of the scroll. There are small grey circular accents at the top-left and top-right corners of the scroll, suggesting where it is held or tied.

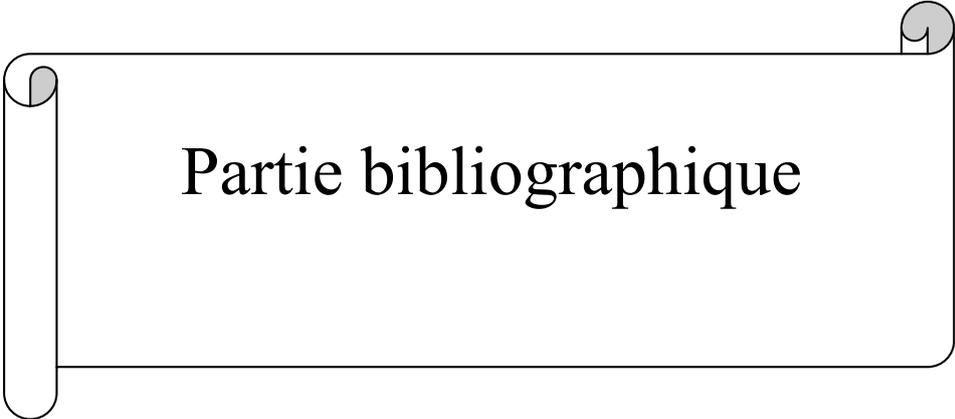
Introduction

En Algérie, la filière avicole « chair » a connu depuis 1980 un développement notable, soutenu par une politique incitative. Cependant, les pratiques d'élevage accusent un retard technologique considérable par rapport aux pays industrialisés, ceci retentissant non seulement sur la productivité des ateliers avicoles, mais aussi et surtout sur la santé publique. En effet, la problématique de la filière avicole sur le plan sanitaire reste toujours tributaire des conditions d'élevage en général, et plus particulièrement de l'hygiène des bâtiments. La barrière sanitaire au niveau des élevages est tellement faible, qu'elle est à l'origine de taux de mortalités excessifs, d'utilisation abusive des produits vétérinaires et de la propagation de diverses pathologies (Kaci et al., 2001).

Parmi ces pathologies, les colibacilloses font partie des infections bactériennes les plus fréquentes et les plus importantes dans les élevages en pathologie aviaire, pouvant entraîner de la mortalité, des retards de croissance, des baisses de performances, des chutes de l'éclosabilité et d'importantes saisies au niveau des abattoirs, ajoutant à cela des frais importants en antibiothérapie (Cloud *et al.*, 1986).

Dans cet esprit, plusieurs études ont été déjà entreprises dans différentes régions du monde notamment en Algérie (Hammoudi *et al.*, 2008 ; Aggad *et al.*, 2010; Messai *et al.*, 2013). Elles ont consisté à déterminer la fréquence de la résistance des souches *E. coli* à différentes familles d'antibiotiques utilisées en espèce aviaire. Les résultats obtenus sont inquiétants et indiquent l'émergence et la dissémination des souches dites « multi-résistantes » à grande échelle.

C'est dans le même contexte que s'inscrit cette étude qui se fixe pour objectif, d'une part, d'isoler des souches *Escherichia coli* depuis des poulets de chair présentant des lésions de colibacilloses; et d'autre part, d'étudier leur sensibilité vis-à-vis de molécules d'antibiotiques utilisées en médecine vétérinaire. Pour ce faire, nous allons suivre un plan classique ou après une partie bibliographique concernant : la bactériologie général d'*Escherichia coli*, les infections à *Escherichia coli* dans l'espèce aviaire, et les antibiorésistances. Nous aborderons une deuxième partie consacrée à l'étude expérimentale qui est l'analyse bactériologique (isolement, antibiogramme). Cette dernière sera conclue par la proposition de recommandations.



Partie bibliographique

CHAPITRE I : BACTERIOLOGIE GENERALE

I. Introduction :

E. coli est un hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'homme et des animaux à sang chaud. Son établissement dans le tractus digestif s'effectue durant les premières heures ou journées qui suivent l'accouchement ou l'éclosion. *E. coli* constitue alors tout au long de la vie de l'hôte, l'espèce bactérienne dominante de la flore aérobie intestinale.

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

II. Historique :

C'est en 1885 que la bactérie *Escherichia coli* est décrite pour la première fois dans des selles de nourrissons, par l'Allemand Theodor Escherich sous le nom de *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 des fèces des mammifères (Greathorex et Thorne, 1994).

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

III. Définition :

Escherichia coli est l'espèce type du genre *Escherichia*. Appelée couramment colibacille, on utilise le nom d'espèce coli venant du grec kôlon qui signifie intestin du fait de sa présence dans celui-ci. Elle appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* et à la classe des γ *Proteobacteria* (phylum des *Proteobacteria*) et le genre *Escherichia*. Cependant, certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes (Brenner *et al.*, 2005).

IV. Caractères bactériologiques :

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

IV.1.1. Caractères morphologiques:

C'est un bacille à Gram négatif, non sporulé, parfois capsulé, assez grand (1-1,5 × 2-6 µm). Disposé individuellement ou par paires, il est mobile par ciliature péritriche, bien que certaines souches ne sont pas mobiles. La plupart des souches se multiplient rapidement sur les milieux gélosés ordinaires ou sélectifs, elles donnent en 18 à 24 h des petites colonies de 2 mm de diamètre ayant un aspect caractéristique mais non spécifique : elles sont rondes, plates en "dos de scarabée" et à bords réguliers, convexes, lisses, et incolores (Richard, 1989).

Les colonies sont de couleur rose claire et entourées d'un halo de précipitât de sels biliaires sur gélose Mac Conkey. Certaines souches peuvent former des colonies mucoides de couleur rose vif. Elles sont de couleur jaune saumon, sur la gélose Hektoen.

IV.1.2. Caractères cultureux:

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

IV.1.3. Caractères biochimiques :

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

Tableau 1 : Caractères biochimiques différentiels du genre *Escherichia* et genres d'*Enterobacteriaceae* proches

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

ADH	-	-	D	+	D	-	-	-	-	+	-	-
ODC	d	D	+	+	D	d	+	-	+	d	+	-

Source : Farmer *et al.* (1985)

**Salmonella* compris SG III (Arizona).

Résultats obtenus après 18-24 h d'incubation à 36-37°C.

** Symboles :

+ = positif pour 90% à 100% des souches ; - = négatif pour 90% à 100% des souches ;

d = variable selon les souches.

LDC : lysine décarboxylase, VP : réaction de Voges-Proskauer, ADH : arginine dihydrolase. ODC : ornithine décarboxylase.

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

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

V. Propriétés antigéniques :

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

V.1. Les antigènes somatiques O :

Correspondent aux lipopolysaccharides présents sur la paroi bactérienne des souches à Gram négatif, de structures complexes et définissant le 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 une souche de colibacille car elle conditionne le pouvoir pathogène des souches, ainsi que l'immunité conférée. Cependant, il existe de nombreuses réactions croisées, notamment avec les LPS d'autres bactéries à Gram négatif (Levine, 1987 ; Su et Brant, 1995).

V.2. Les antigènes flagellaires H :

Correspondent aux protéines flagellaires, constituées de flagelline. Cette protéine est présente dans le flagelle qui permet le déplacement des bactéries mobiles. Ils peuvent permettre l'agglutination en présence d'un immunosérum spécifique (Gherbu, 1988 ; Grimont, 1987 ; Gyles, 1994 ; Orskov et Orskov, 1992).

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

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

V.3. Les antigènes capsulaires K :

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

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

V.4. Les antigènes de surface F :

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

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

VI. Habitat, pouvoir pathogène naturel:

Chez l'homme, il représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie (10^6 à 10^8 bactéries par gramme chez l'adulte).

Escherichia coli est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. C'est un coliforme fécal, germe indicateur de contamination fécale dans les eaux et les aliments.

VI.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 (tableau 2) (Nataro et Kaper, 1998 ; Kaper *et al.*, 2004).

Tableau 2 : Principaux pathovars d'*E.coli*

Pathovars d' <i>E.coli</i>	Mécanisme de pathogénicité	Symptômes
Entéropathogène(EPEC)	Modification de l'ultrastructure des entérocytes	Diarrhée aigüe banale Turista
Entéro-adhérent(EAEC)		
Entéro-agrégatifs(EagEC)		
Entéro-invasifs(EIEC)	Envahissement des cellules épithéliales du colon	Dysentérie
Entérotoxigène(ETEC)	Cytotonine thermo-stable (ST) et thermo-labile (LT) : fuite hydro-électrolytique	Diarrhée cholériforme Turista
Entéro-hémorragiques (EHEC)	Production de shiga like toxin (SLT) : destruction des cellules épithéliales du colon	Colite hémorragique, diarrhée aqueuse. Syndrome urémiques et hémolytiques

Source : Eric Pichard (2002)

VI.2.Chez les animaux :

E. coli est responsable, chez l'animal, du même potentiel infectieux que chez l'homme, causant une grande variété de maladies intestinales et extra-intestinales *E. coli* (tableau 3). Les infections les plus étudiées sont celles des animaux domestiques mais les animaux sauvages sont également sensibles à *E. coli* (Bettelheim, 1992 ; Gyles et Fairbrother, 2010).

VI.2.1.ETEC :

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

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

VI.2.2.STEC :

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

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

VI.2.3.EPEC :

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

VI.2.4.ExPEC :

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

- **Chez le poulet** : 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 3 : Principaux pathovars et facteurs de virulence d'*E. coli* causant la maladie chez l'espèce aviaire

Maladie	Pathovar	Facteur de virulence	Serogroupe 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 type 1 et P, K1	2, 25, 71, 78

Source : Gyles et Fairbrother (2010)

CHAPITRE II : LES INFECTIONS A *Escherichia coli***I. Introduction :**

La colibacillose est une des maladies les plus fréquentes en volailles, impliquant des pertes économiques importantes et l'utilisation d'antibiotiques (Puterflam et Souillard, 2017). Les infections aviaires à *Escherichia coli* comprennent la colibacillose respiratoire, la colisepticémie, les ovarites, les omphalites et la coligranulomatose. Les maladies colibacillaires affectent essentiellement les jeunes oiseaux à cause de leur système immunitaire immature. L'intervention unique du colibacille en pathologie aviaire est rare. En effet, les maladies colibacillaires sont souvent le résultat de défauts d'élevage (facteurs environnementaux) ou sont favorisées par l'intervention d'autres agents infectieux comme les mycoplasmes ou les virus (Widmann, 2008).

II. Historique :

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

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

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

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

III. Définition :

La colibacillose désigne toute infection localisée ou systémique causée entièrement ou partiellement par les souches APEC (Avian Pathogenic *Escherichia coli*) (Barnes et al, 2003). C'est une maladie infectieuse, contagieuse, inoculable dans certaines conditions, due le plus

souvent à des souches de sérotypes O1K1, O2K1, O78K80 réputées hautement pathogènes (Gross, 1991, Mogenet et *al.*, 1997).

IV. Importance économique et sanitaire :

Il y a un accord général que la colibacillose représente à l'heure actuelle l'une des plus importantes causes de pertes économiques dans le secteur avicole et constitue aussi l'un des motifs de saisie les plus fréquents à l'abattoir. A 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 (Stordeur et Mainil, 2002).

La plupart des APEC isolées à partir de la volaille sont des types non pathogènes que pour les oiseaux et représentent un faible risque de maladie pour les personnes ou d'autres animaux. Cependant, les poulets sont facilement infectés avec *E. coli* O₁₅₇H₇, un agent pathogène entéro-hémorragique important de l'homme qui produit la Shigatoxine, et peut perdre l'organisme pendant des mois (Barnes et *al.*, 2003).

V. Etiologie :

L'agent étiologique de la colibacillose est la bactérie *Escherichia coli* (*E. coli*), qui fait partie des pathovars APEC (Avian Pathogenic *Escherichia coli*), proches génétiquement des ExPEC (Villate, 2001 ; Gyles et Fairbrother, 2004).

VI. Epidémiologie :

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

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

La litière sale est la plus importante source de contamination des œufs lors de la ponte. De même pour la poussière, on retrouve jusqu'à 10⁶ colibacilles/g de poussière d'élevage et d'éclosions (Gross, 1994). L'alimentation, l'eau de boisson souillée par les matières fécales, qui

est un véritable bouillon de culture, représentent une source de contamination (Barnes *et al.*, 2003 ; Guerin *et al.*, 2008).

VII. Pathogénie :

Les concentrations les plus fortes en colibacilles sont retrouvées dans la partie postérieure du tractus digestif des poulets de moins de trois semaines. Cependant, leur pouvoir pathogène ne s'exprime pas au niveau du tractus digestif chez les volailles (Stordeur *et al.*, 2002). La voie d'entrée principale des *E. coli* pathogènes est le tractus respiratoire (après excrétion fécale). Leur transport ne pose aucun problème car elles sont très facilement véhiculées par la poussière, ce qui permet une contamination importante en élevage. Les bactéries peuvent aussi se retrouver dans l'aliment ou l'eau de boisson.

Après pénétration, les bactéries se multiplient une première fois au niveau du tractus respiratoire supérieur, avant de gagner les voies respiratoires profondes (sacs aériens et poumons). La troisième étape consiste en une colisepticémie et une colonisation du cœur, du foie et de la rate (Duphin, 2010).

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).

VIII. L'expression clinique:

Les manifestations cliniques de la colibacillose varient notamment suivant l'âge de l'animal et le sérotype infectant. Il en résulte des syndromes variés évoluant sous forme septicémique ou localisée (Widmann, 2008).

VIII.1. Mortalité embryonnaire du jeune poussin :

Cette expression de la colibacillose est responsable d'une forte mortalité chez les poussins de moins d'une semaine. La contamination de l'œuf (et plus précisément de la membrane vitelline) se fait essentiellement lors de la ponte au passage du cloaque. Les œufs contaminés présentent une coquille de moins bonne qualité, plus chaude et mouillée. On note en parallèle des mortalités embryonnaires. Ces mortalités se poursuivent après l'éclosion et ce, pendant une période de 3 semaines. Durant cette période les poussins peuvent présenter des omphalites ainsi que des lésions de péricardite. Cependant, la manifestation la plus fréquente est

une diminution du gain moyen quotidien, ce qui engendre des pertes économiques conséquentes. (Widmann, 2008).

VIII.2. Maladie respiratoire chronique et septicémie :

Cette pathologie constitue la principale manifestation de la colibacillose et représente une dominante pathologique chez les poulets de chair élevés industriellement. Elle affecte les faisans, les dindes, les canards et les poulets entre l'âge de 2 et 12 semaines. Ces derniers sont particulièrement sensibles et cette pathologie peut entraîner une mortalité importante. Cependant, l'impact économique est surtout dû au taux de morbidité important (pouvant aller jusqu'à 50%), à une réduction significative de la croissance ainsi qu'aux saisies à l'abattoir.

La contamination se fait par voie respiratoire et est secondaire à une infection par des mycoplasmes, par des virus à tropisme respiratoire ou bien à une irritation du tractus respiratoire par des agents irritants de l'air.

On note d'abord une chute importante de la consommation alimentaire, accompagnée d'une forte hyperthermie. Les animaux refusent de bouger et présentent ensuite des larmolements, jetages, râles, toux et sinusite. L'évolution vers une septicémie n'est pas rare.

Les principales lésions sont une aérosacculite, une péricardite, une périhépatite voire une péritonite.

Il existe des formes subcliniques se traduisant seulement par une diminution de la prise alimentaire (Widmann, 2008).

VIII.3. Syndrome de la grosse tête :

Cette maladie apparaît le plus souvent vers la trentième semaine. Elle est caractérisée par une inflammation aiguë des cellules de la peau et du tissu sous-conjonctif de la tête. On note donc un œdème de la tête et de la région périorbitaire. Cette pathologie n'est pas très fréquente mais la majorité des animaux présentant ces symptômes y succombent (Widmann, 2008).

VIII.4. Cellulite (ou dermatite nécrotique) :

Elle est rapportée pour la première fois par (Randall en 1984) en Angleterre. C'est une

maladie de surpeuplement et de mauvaise hygiène, associée à des problèmes de santé dans les élevages. D'ailleurs les élevages ayant peu de problèmes de santé ont aussi peu de saisies causées par la dermatite nécrotique.

Il s'agit d'une dermatite nécrotique, issue d'un processus infectieux ou inflammatoire entraînant un exsudat inflammatoire du tissu sous-cutané, généralement localisé au niveau inférieur de l'abdomen et sur les cuisses des poulets de chair.

Aucun signe clinique n'est associé cette dermatite mais la présence de ces lésions entraîne une saisie d'une partie ou de la totalité de la carcasse (Bensari, 2009).

VIII.5. Infections du tractus génital (ovarites et salpingites) :

Les infections à *E. coli* peuvent toucher l'appareil génital des poules pondeuses qui vont développer des ovaro-salpingites. La contamination de l'appareil génital des poules peut être due au contact avec le sac aérien gauche infecté, à la rupture de la paroi et à la péritonite. Elle peut également avoir une origine ascendante (insémination artificielle). Ces infections sont responsables de chutes de pontes.

Alternativement, les APEC peuvent sporadiquement envahir la cavité péritonéale via l'oviducte et entraîner une péritonite puis la mort de l'individu et peuvent aussi être à l'origine des infections de la vésicule vitelline (Mellata, 2003).

VIII.6. Arthrites et synovites :

Les colibacilles peuvent surinfecter des maladies primitives telles que les arthrites à réovirus (poulet, canard) ou les synovites à *Mycoplasma synoviae*. Ils peuvent également être des agents primaires dans deux situations : Les colibacilles sont inoculés par des blessures ou des traumatismes (lors du chaponnage par exemple) puis des lésions chroniques de développement sur les survivants. Dans ce dernier cas, des arthrites, ténosynovites et spondylarthrites se développent mais des ostéomyélites peuvent également apparaître. Ainsi, en cas de boiterie, il faut rechercher des signes d'ostéomyélite. Chez le jeune animal, les signes nerveux sont possibles, en lien avec une méningite ou encéphalite. Chez le dindon, l'ostéomyélite touche les

os, les articulations et les tissus mous péri-articulaires. Ces lésions sont associées à des lésions hépatiques : le foie est hypertrophié et devient verdâtre (Couriera, 2017).

VIII.7. Coligranulomatose (ou maladie de Hjarre) :

Elle est peu fréquente, mais peut entraîner un taux de mortalité important (jusqu'à 75%). On note l'apparition de granulomes dans le foie, le duodénum, le caecum et le mésentère mais jamais sur rate (Widmann, 2008).

VIII.8. Entérites :

Bien que certains travaux suggèrent une étiologie colibacillaire des entérites chez la volaille, l'association entre la maladie et le germe n'a pas encore été formellement établie (Mellata, 2003).

Les animaux présentent une diarrhée, ce qui entraîne une déshydratation. A l'autopsie, les intestins et caeca sont distendus avec du liquide et du mucus (Couriera, 2017).

IX. Diagnostic :

IX.1. Clinique :

Le diagnostic repose sur l'isolement et l'identification d'*E. Coli* à partir de lésions typiques de la colibacillose. Des précautions doivent être prises pour éviter la contamination fécale des échantillons. L'isolement d'*E. coli* des organes viscéraux des oiseaux en décomposition doit être interprété avec prudence, car *E. coli* se propage rapidement du tractus intestinal des oiseaux morts (Saif et al., 2008).

IX.2. Diagnostic différentiel :

Les lésions observées ne sont pas spécifiques d'une infection par *E. coli*. D'autres agents pathogènes cités dans le tableau 4 ci-dessous peuvent être responsables de lésions similaires :

Tableau4 : Diagnostic différentiel de la colibacillose

Affection	Etiologies possibles
Aérosacculite	<i>Pasteurella</i> spp, <i>Mycoplasma</i> spp, <i>Chlamydia</i> spp (dinde)

Péricardite/ péritonite	<i>Chlamydia</i> spp, <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Entérocooccus</i> spp, <i>Streptococcus</i> spp
Omphalite / infection du sac vitellin	<i>Aerobacter</i> spp, <i>Proteus</i> spp, <i>Salmonella</i> spp, <i>Staphylococcus</i> spp, <i>Enterococcus</i> spp, <i>Bacillus</i> spp, <i>Clostridium</i> spp
Septicémies aiguës	<i>Pasteurella</i> spp, <i>Ornithobacterium</i> spp, <i>Salmonella</i> spp, <i>Streptococcus</i> spp, <i>Staphylococcus</i> spp, <i>Riemerella</i> spp, <i>Pseudomonas</i> spp
Granulomes hépatique	Bactéries anaérobies

Source : Brugere-Picoux(2015)

X. Traitement :

Le traitement doit être précoce. Il fait appel aux antibiotiques actifs contre les Gram négatif avec, pour les colibacilloses systémiques, une diffusion dans tout l'organisme. En ce sens, ne pouvant franchir la barrière intestinale de l'animal, les polypeptides (colistine) et aminocyclitols (spectinomycine) sont contre-indiqués en cas de lésions systémiques.

Si le choix est possible, après réalisation d'un antibiogramme, il vaut mieux avoir recours à des molécules actives d'élimination tissulaire rapide :

- Quinolones : acide oxolinique, fluméquine, enrofloxacin ;
- Béta-lactamines : amoxicilline, ampicilline ;
- Tétracyclines : oxytétracycline, cyclines de 2ème génération (doxycycline) ;
- Triméthoprime-sulfamides.

La multirésistance au sein des souches colibacillaires est fréquente. Il est à noter que les anticoccidiens, hormis le toltrazuril, ont également un effet sur les coliformes (Couriera, 2017).

XI. Prophylaxie :

XI.1. Sanitaire :

La prophylaxie sanitaire vise à lutter contre toutes les sources de contamination, les vecteurs animés ou inanimés, et les facteurs favorisant :

- La ventilation et la qualité de la litière en élevage doivent être maîtrisées ;
- Les rongeurs et insectes sont des réservoirs de colibacilles et doivent donc être combattus ;

- La qualité de l'eau de boisson, se traduisant par un potentiel hydrogène (pH) bas (autour de 6) et un potentiel redox haut en bout de circuit, est primordiale pour limiter la prolifération bactérienne ;
- Les mesures générales préventives de séparation des âges, des espèces, de nettoyage, de détergence, de désinfection et de vide sanitaire sont aussi indispensables dans la prévention des colibacilloses. *E. coli* est sensible à la dessiccation et à la plupart des acides organiques tels que l'acide citrique, l'acide tartrique ou l'acide salicylique (Couriera, 2017).

XI.2. Médicale :

Il existe un vaccin inactivé commercialisé, le POULVAC E. COLI, destiné aux poulets de chairs, futures pondeuses et reproducteurs. Composé par une souche *Escherichia coli* vivant type O78, ce vaccin permet de réduire les lésions et la mortalité dues à *Escherichia coli* O78. Il permettrait également de réduire l'incidence et la sévérité des aérosacculites liées à une infection par des colibacilles de sérotypes O1, O2 et O18.

Les autovaccins inactivés permettent d'utiliser la souche isolée dans l'élevage et sont efficaces dans la prévention des colibacilloses en ponte. Cette solution est beaucoup plus adaptée et en ce sens favorisée par les éleveurs (Couriera, 2017).

CHAPITRE III : LES ANTIBIOTIQUES ET LES ANTIBIORESISTANCES

I. Les antibiotiques

I.1. Introduction :

Les antibiotiques sont la seconde classe de médicaments utilisés en médecine vétérinaire. Ils représentent environ 20% du volume des produits pharmaceutiques vétérinaires utilisés (Toutain, 2007).

Leur importance est capitale dans la lutte contre les maladies infectieuses. Ces molécules sont employées dans de nombreux domaines comme principal moyen de lutte contre les infections bactériennes (Bonnet, 2014).

I.2. Historique :

Durant les années 1870, les scientifiques décrivent à plusieurs reprises l'efficacité antibactérienne des moisissures.

En 1929, Fleming donne enfin un nom aux substances extraites des moisissures (du genre *Penicillium*) permettant d'inhiber les cultures de bactéries : La pénicilline G. Ce n'est que dix ans plus tard que les premières Beta-lactamines parviennent à être purifiées, synthétisées et utilisées. Les travaux de Heatley, Florey et Chain durant l'entre-deux guerres ont constitué une véritable avancée pour développer les bêta-lactamines en tant que médicament.

En parallèle, en Allemagne, en 1932, Domagk travaille sur le Prontosil, un sulfamide et met au point en 1935 le premier antibiotique de synthèse. Une nouvelle famille d'antibiotique voit le jour, les sulfamides.

Suit ensuite le développement de plusieurs autres familles d'antibiotiques. Lescher met au point les premières quinolones en 1962 et leurs dérivés, puis les fluoroquinolones dans les années 1970.

Après les années 1970, la recherche sur les antibiotiques se ralentit fortement et la dernière famille d'antibiotique est découverte en 2000, la Linézolide. Cette dernière n'est utilisable qu'en milieu hospitalier (Couriera, 2017).

I.3. Définition :

Les antibiotiques sont des substances chimiques originellement produites par des micro-

organismes. De nos jours, ils sont aussi obtenus par synthèse ou semi-synthèse. A faible concentration, ces molécules peuvent inhiber la croissance, voire même détruire, des bactéries (Collectif, 2008).

I.4. Caractéristiques :

I.4.1. Toxicité sélective :

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

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

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

I.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).

I.4.3. Activité antibactérienne :

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

I.5. Classification :

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- L'origine : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- Le mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques ;
- Le spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large) ;

- La nature chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle beta- lactame) sur laquelle il y a ensuite hémi synthèse ;

La classification selon la nature chimique permet de classer les antibiotiques en familles (béta-lactamines, aminosides, tétracyclines,...etc.) (Benabbou, 2012).

I.6. Modes d'action des principales familles d'antibiotiques :

A la différence des antiseptiques et des désinfectants, les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne. Cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variées (Mevius et *al.*, 1999 ; Oxoby, 2002).

Les antibiotiques peuvent agir sur (figure 1):

- La paroi : inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (bêtalactamines, glycopeptides, fosfomycine) ;
- Le ribosome : inhibition de la synthèse protéique (cyclines, aminosides, macrolides) ;
- Le chromosome : inhibition de la synthèse de l'ADN (quinolones) ;
- La membrane cytoplasmique : inhibition de la synthèse de la membrane (polymyxines) (Talbert et *al.*, 2009).

Les Beta-lactamines perturbent la synthèse de la paroi bactérienne en se fixant sur les enzymes notamment sur la transpeptidase - de la dernière étape de la biosynthèse. Cette famille est donc plus efficace sur des bactéries en croissance.

Les sulfamides, potentialisées par le triméthoprime, empêchent la biosynthèse des bases puriques et pyrimidiques en inhibant la biosynthèse de leur précurseur, l'acide tétra-hydrofolique.

Les tétracyclines inhibent la traduction en protéines en empêchant la fixation de l'aminoacyl-ARNt sur le site A des ribosomes. L'accès à leur cible implique le passage de la membrane externe des bactéries Gram – via les porines. Les composés hydrophiles sont alors favorisés (les tétracyclines). Le passage de la membrane cytoplasmique s'effectue quant à lui par transport actif ou diffusion passive. Cette dernière voie de transport favorise les molécules lipophiles (la doxycycline).

Les fluoroquinolones inhibent la répllication de l'ADN en agissant à différentes étapes de la synthèse de l'acide nucléique (Couriera, 2017).

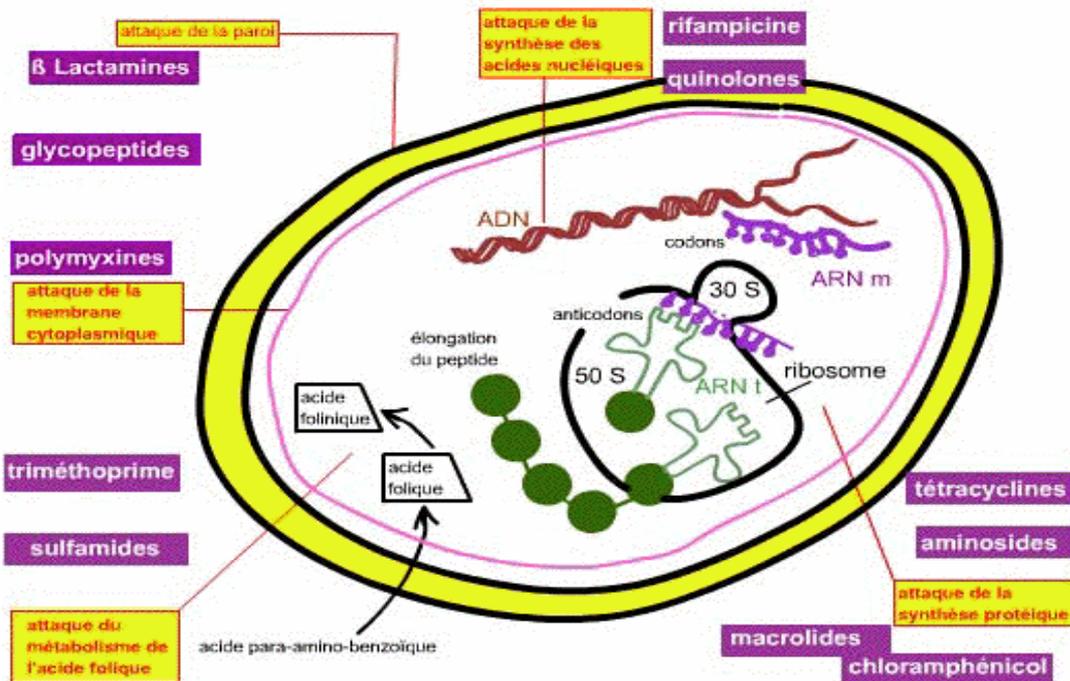


Figure 1 : Différents modes d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007)

I.7. Les antibiotiques en médecine vétérinaire :

I.7.1. Usage des antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent être utilisés de quatre façons différentes, avec des objectifs variables (Schwarz *et al.*, 1996) :

- Utilisation à titre thérapeutique curatif : l'objectif majeur est d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité (Ghalmi, 2012) ;
- Utilisation en métaphylaxie : Elle permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes. La métaphylaxie est généralement mise en œuvre à partir d'un seuil d'atteinte des animaux au sein du lot de 10-15% de l'effectif (par exemple dans un lot de taurillons à l'engrais affectés par une broncho-pneumonie) (Maillard, 2002) ;
- Utilisation en antibio-prévention : cette modalité d'utilisation des antibiotiques est adaptée à une situation sanitaire donnée et doit être provisoire (Soulsby, 2007) ;

- Utilisation en tant qu'additifs dans l'alimentation animale : elle est très limitée actuellement et sera totalement abandonnée fin 2005 en Europe. Ces « antibiotiques régulateurs de flore » (ARF) ou « antibiotiques promoteurs de croissance » (AGP) pour "antibioticgrowth promotors" sont utilisés à des doses très faibles, non curatives et sont tous des agents chimiothérapeutiques non utilisés en médecine humaine pour limiter les risques de sélection de résistance vis-à-vis de molécules d'intérêt médical majeur (Bezoen et *al.*, 1999).

1.7.2. Impact de l'antibiothérapie dans les élevages avicoles :

Les risques d'usage d'antimicrobiens dans les élevages avicoles sont de deux sortes :

- Présence des résidus dans les viandes ;
- Acquisition de résistances aux antibiotiques par les bactéries (Hafri et *al.*, 2017).

II. L'ANTIBIORESISTANCE

II.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).

II.2. Historique :

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

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

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

II.3. Définition :

Aujourd'hui, la définition de la résistance d'une bactérie est variable selon le point de vue

(bactériologique, pharmacologique, clinique, épidémiologique) :

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

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

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

II.4. Types de résistance :

La résistance aux ATB peut être naturelle ou acquise :

II.4.1. Résistance naturelle :

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

II.4.2. Résistance acquise :

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

II.5. Biochimie de la résistance :

II.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 (topoisomérases de type II) et topoisomérase IV au niveau de la région appelée Quinolone Resistance Determining Region

(QRDR) des gènes *gyrA* et *parC* cibles des quinolones et qui sont composées de 2 fois 2 sous-unités codées respectivement par les gènes *gyrA*, *gyrB* et *parC*, *parE* qui confèrent la résistance aux fluoroquinolones (Boucheron *et al.*, 2003). Ou la résistance aux 4-6-desoxystreptamines par méthylation de l'ARN 16S (Galimand *et al.*, 2005).

II.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).

II.6. Mécanismes biochimique de la résistance aux antibiotiques :

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

II.6.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique :

La bactérie résistante produit une enzyme capable d'induire une modification de la molécule d'antibiotique par l'ajout de groupements acétyle, adéninyle ou phosphorique, aboutissant ainsi à son inactivation ou à sa destruction (Abdennebi, 2006 ; Doucet, 2006). C'est le mécanisme le plus important quantitativement et qualitativement (Alami *et al.*, 2005).

II.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 (figure 2). On peut les classer suivant les β -lactamines qu'elles hydrolysent de manière préférentielle, par exemple céphalosporinase (Poyart, 2003 ; Naucielet Vildé, 2008).

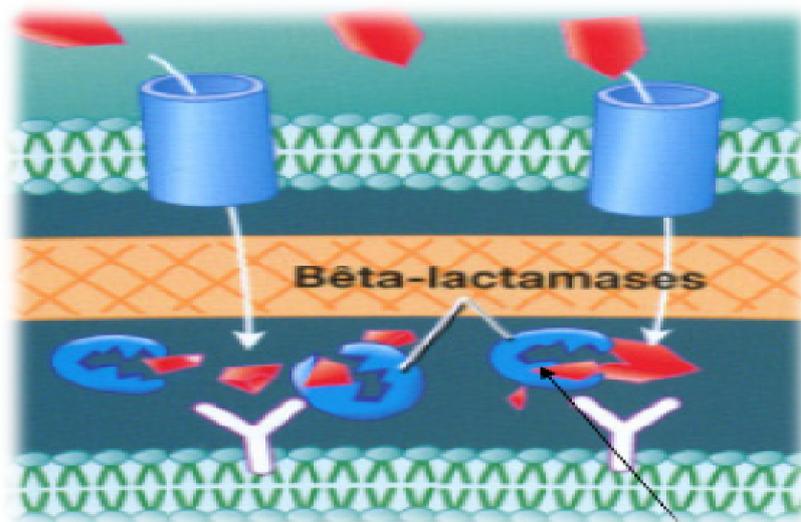


Figure 2 : Inactivation enzymatique des antibiotiques par les β -lactamases (Archambaud, 2009)

II.6.1.2. Enzymes inactivant les aminosides, le chloramphénicol et les macrolides :

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

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

II.6.2. Modification de la cible :

La liaison de l'antibiotique à sa cible est inhibée par une reprogrammation ou camoufflage 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 étranger au niveau des gènes des PLP, donnant naissance à des gènes mosaïques (Nauciel et Vildé, 2008).

II.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 ; Denyer et Maillard, 2002 ; Nauciel et Vildé, 2008).

II.6.4. Excrétion de l'antibiotique par efflux :

Il existe chez les bactéries des systèmes permettant la non-accumulation à l'intérieur de la bactérie : c'est l'excrétion ou efflux actif (Alami, 2005). L'efflux actif est un mécanisme de transport membranaire nécessitant de l'énergie qui pompe l'antibiotique de l'intérieur vers l'extérieur plus vite qu'il ne rentre (figure 3). Les ATB exerçant leur action sur des cibles cytoplasmique seront les plus touchés (Croize, 2005).

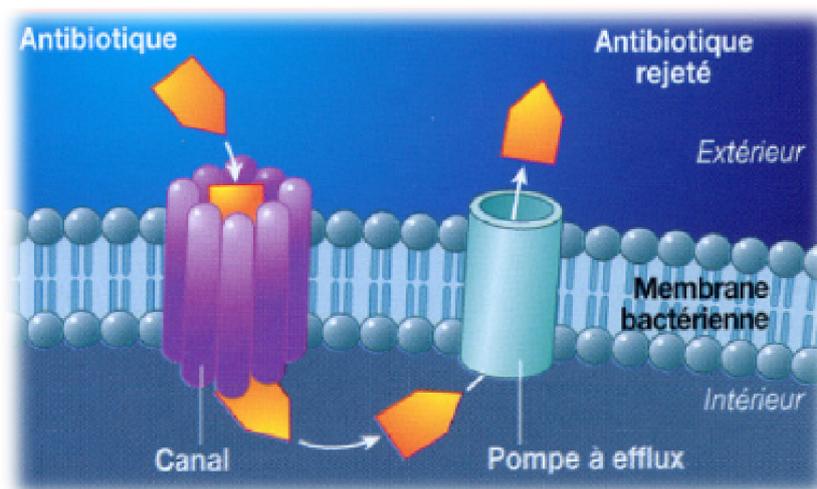


Figure 3: Excrétion de l'antibiotique par efflux actif (Archambaud, 2009)

II.7. Mécanisme génétique de la résistance :

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

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

II.8. Conséquence de la résistance aux antibiotiques :

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

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

Cette résistance a des conséquences médiates et immédiates:

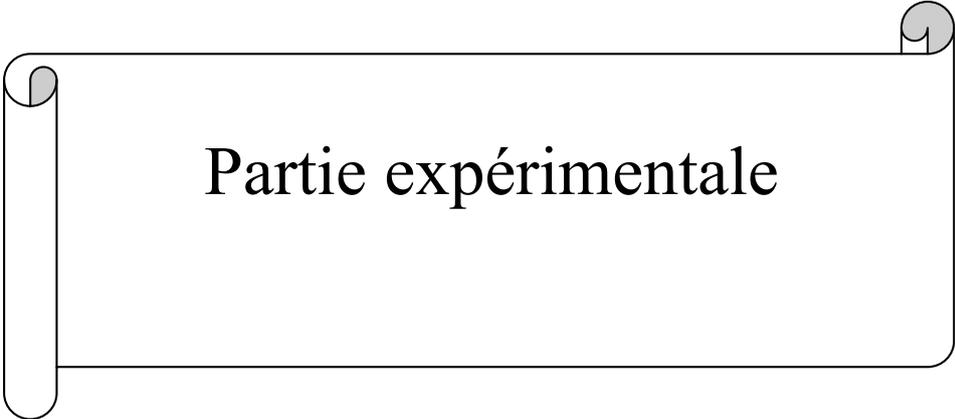
- L'échec thérapeutique est la conséquence pratique majeure de l'antibiorésistance chez l'animal dû à la résistance des bactéries pathogènes (Sanders, 2005 ; Abdennebi, 2006) ;
- *Diffusion de la résistance*. Chez les bactéries, les gènes de résistance sont transmis à la descendance par transmission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

II.9. Conclusion :

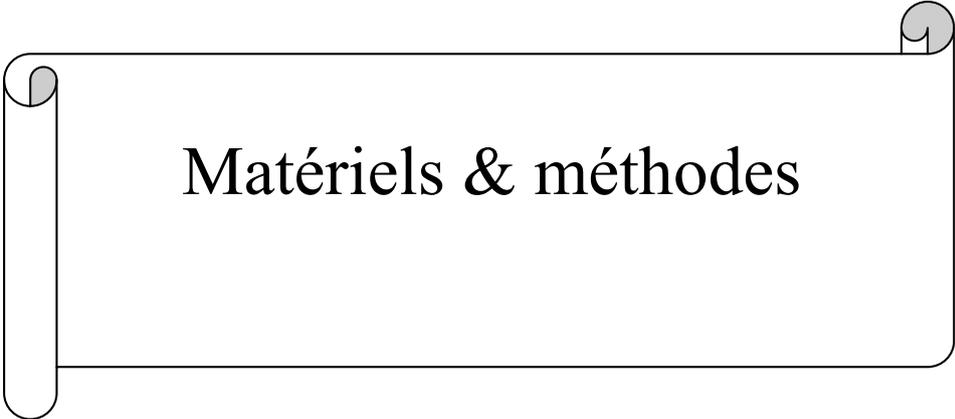
L'emploi intensif et anarchique des antibiotiques, tant en médecine humaine que vétérinaire, est directement relié à l'augmentation des résistances et à la perte d'intérêt d'un

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.



Partie expérimentale



Matériels & méthodes

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I. Objectifs :

Le but de notre étude est d'isoler et d'identifier le germe *Escherichia coli* à partir des sujets (poulets de chair) présentant les lésions de colibacillose et d'étudier leur sensibilité vis-à-vis de 12 molécules d'antibiotiques.

II. Lieu et période de l'étude :

L'étude s'étend sur une période d'un mois et demi, du 10 avril jusqu' au 31 mai 2018. Les sujets sont récupérés à partir des élevages situés dans la wilaya de Tiziouzou.

L'autopsie des sujets est effectués au niveau de la clinique aviaire de l'ENSV où les foies sont prélevés stérilement sur place et acheminés au laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV pour les examens bactériologiques.

III. Matériel et méthodes :

III.1. Matériel :

III.1.1. Echantillonnage et prélèvement :

Les sujets qui proviennent des élevages sont des sujets fraîchement morts. Au total, quarante sujets ont été récoltés. Ils présentent les lésions pathognomoniques de la colibacillose à l'exaen nécropsique : aérosacculite, péricardite et/ou périhépatite. Les organes sont prélevés stérilement et mis dans des pots stériles (figure 4).



Figure 4: Prélèvements d'organes dans les pots stériles (Photo originale, 2018)

III.1.2. Milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés lors de notre expérimentation sont les suivants (voir annexe I) :

- BHIB (Brain Heart Infusion Broth) est un milieu d'enrichissement pour les *E. coli*, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Mac Conkey, milieu d'isolement des bactéries lactose +, Bio Lab, Algérie ;
- HektoenGel, milieu d'isolement des bactéries lactose + /-, Bio Scan, Algérie ;
- Milieu Urée-Indole, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Milieu TSI, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Milieu Mueller Hinton utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Pour l'identification biochimique, nous utilisons la galerie API 20E, BioMérieux, France.

III.1.3. Produits de laboratoire :

Les produits de laboratoire et réactifs utilisés sont les suivants:

- Eau de javel, alcool 70°, eau physiologique 0,9% ;
- Huile de vaseline stérile, Institut Pasteur d'Algérie (voir annexe III);
- Réactif Kovac's, VP1, VP2, TDA (Tryptophane Désaminase), Institut Pasteur d'Algérie (voir annexe III);
- Ecouvillons ;
- Disques d'antibiotiques présentés dans la figure 5.

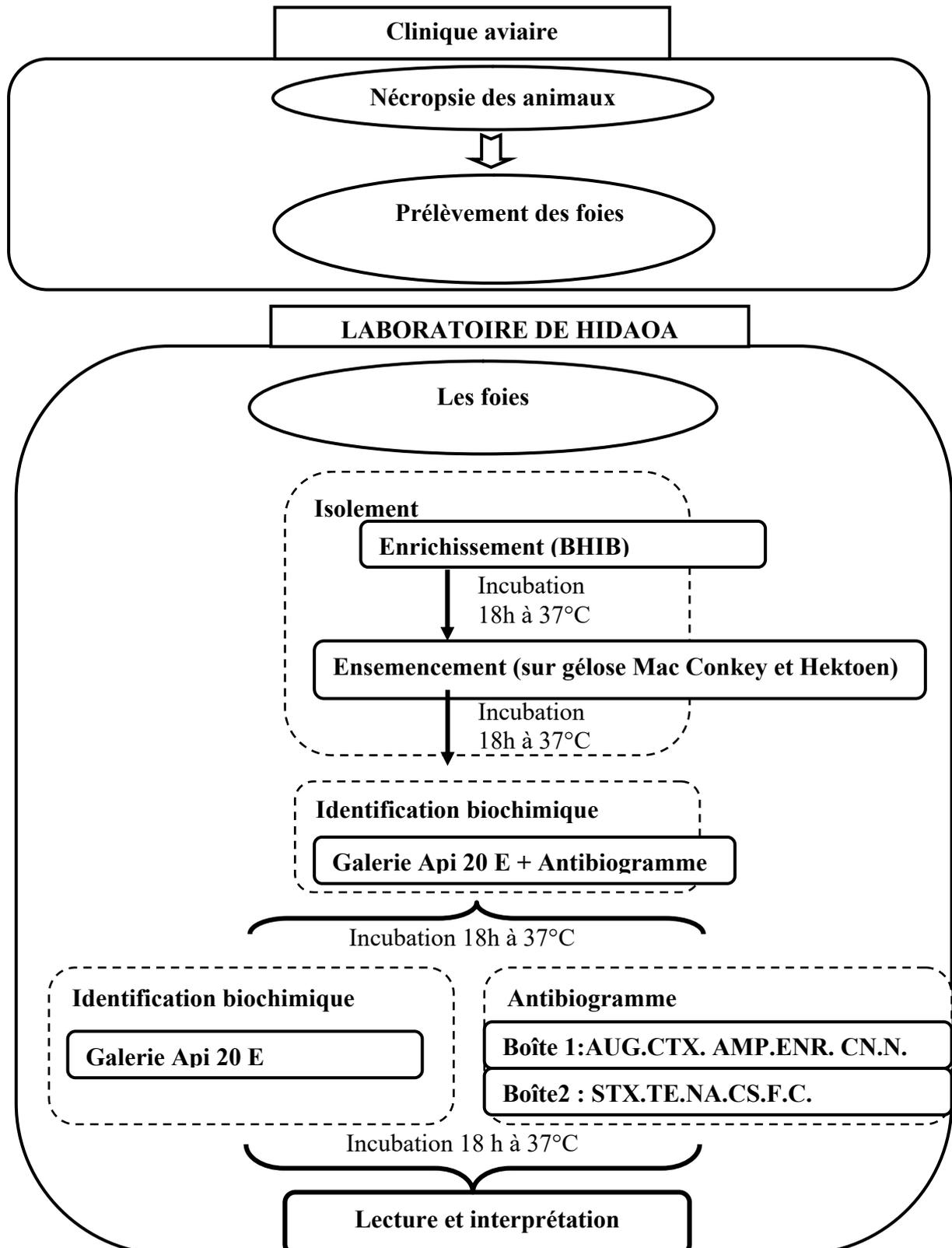


Figure 5 : Etuis de disques imprégnés d'antibiotiques (photo originale, 2018)

III.2. Méthodes :

III.2.1. Conduite expérimentale :

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



III.2.2. Autopsie :

L'autopsie ou la necropsie est un temps essentiel du diagnostic en pathologie aviaire et une étape primordiale; elle est faite pour déterminer les causes de mortalités des sujets. Cependant elle nécessite une connaissance parfaite des techniques d'autopsie, de la topographie normale des organes, mais aussi des principales images lésionnelles que l'on peut rencontrer dans la pratique courante.

Nous avons suivi au cours de notre travail le protocole préconisé par Madjo et Dolz, (2012) et qui est résumé dans les étapes suivantes :

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

III.2.3. Lésions :

L'examen nécrosique de 40 carcasses autopsiées au clinique aviaire de l'ENSV révèle les lésions suivantes :

III.2.3.1. Aérosacculite :

Lors de l'atteinte du tractus respiratoire, cette lésion va du simple dépolissement à la formation d'omelette fibrineuse des sacs aériens conduisant à leur opacification (figure 6). Les sacs aériens, entre autres, s'épaississent et présentent un aspect congestif, rencontrée lors de la

forme respiratoire de la colibacillose. Cette observation rejoint ce qui est décrit par Villate (2001) et Stordeur et Mainil (2002).



Figure 6 : Lésion d'aérosacculite (Photo originale, 2018)

III.2.3.2. Péricardite :

Les sujets autopsiés présentent une inflammation plus ou moins productive (exsudat et augmentation du nombre des cellules inflammatoires localisées au niveau du péricarde durant la phase aiguë) du sac péricardique.

La figure 7 présente une péricardite avec dépôt fibrineux important. La péricardite est rencontrée le plus souvent lors de la forme respiratoire de colibacillose comme rapporté par Villate (2001).



Figure 7 : Péricardite avec dépôt fibrineux (Photo originale, 2018).

III.2.3.3. Perihépatite :

Les sujets atteints présentent un foie hypertrophié et congestionné, avec une coloration très foncée dans les formes les plus aiguës, ce qui traduit un phénomène d'intoxication due à l'endotoxine du colibacille. Certains sujets présentent des zones de dégénérescence. Parfois le foie est verdâtre (due à l'oxydation de la bile).

Cette lésion est surtout localisée à la surface du foie. Elle est caractérisée par de la congestion, un épaissement du tissu et un dépôt de fibrine (figure 8), ce qui rejoint l'observation de Stordeur et Mainil (2002).

Cette lésion du foie (perihépatite) est rencontrée dans les deux formes de la maladie, la forme respiratoire et la colisepticémie, comme observé par Villate (2001).



Figure 8 : Carcasse présentant de la perihépatite (Photo originale, 2018)

III.2.4. Bactériologie :

Après avoir réalisé les autopsies, les échantillons prélevés (foies) sont acheminés au laboratoire d'HIDAOA pour les tests microbiologiques. Avant ces étapes bactériologiques ont procédé à :

- La désinfection de la paille avec l'eau de javel ;

- L'allumage du bec benzen pour travailler dans des conditions stériles ;

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

III.2.4.1. Isolement des *Escherichia coli* :

La surface des organes est flambée puis l'organe est coupé stérilement en de petits dés à l'aide d'une pince et de ciseaux stériles (figure 9).



Figure 9 : Foie découpé stérilement en petits dés (Photo originale, 2018)

III.2.4.1.1. Enrichissement :

Le milieu d'enrichissement, tube de BHIB, est ensemencé par l'introduction des petits dés d'organes à l'intérieur du tube puis incubé 18 à 24 h à 37°C (figure 10).



Figure 10 : Enrichissement des organes (Photo originale, 2018)

III.2.4.1.2. Ensemencement :

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

III.2.4.2. Identification des *Escherichia coli* :

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

III.2.4.2.1. Identification morphologique :

Sur une gélose Mac conkey, 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 et entourées d'un halo opaque dû à la précipitation de sels biliaries (figure 11). Cependant, elles sont de couleur jaune saumon sur une gélose Hektoen.



Figure 11 :Aspect des colonies *E.coli* sur gélose Mac conkey (photo originale, 2018)

III.2.4.2. Identification biochimique :

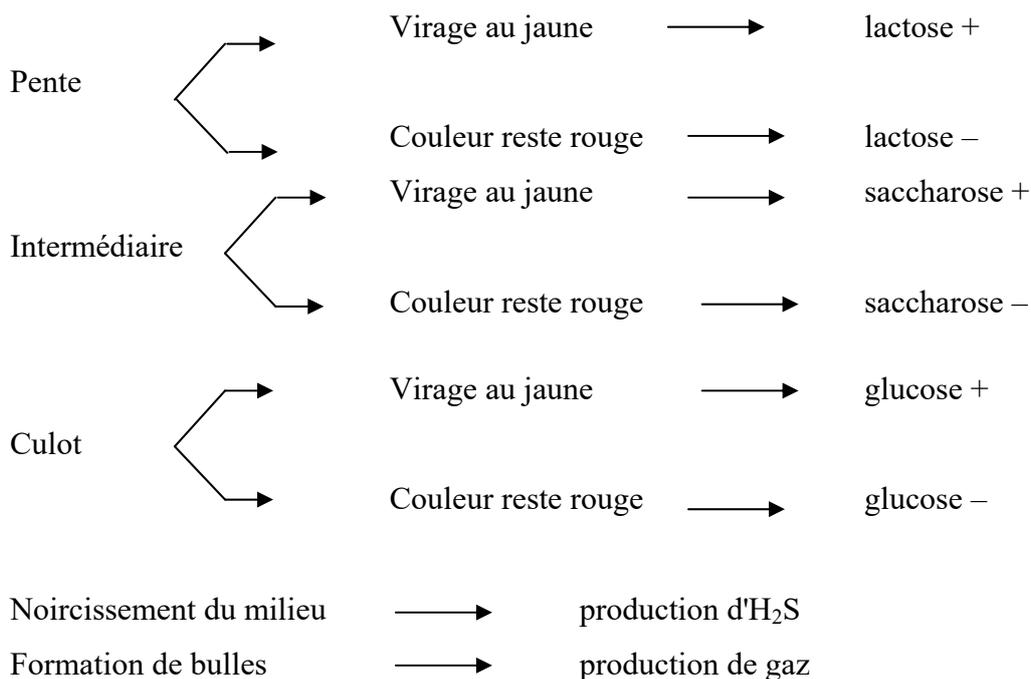
III.2.4.2.2.1. Test des trois sucres :

Ce test permet de mettre en évidence l'utilisation du glucose, la production d'H₂S et du gaz par ces bactéries.

La fermentation du glucose induit (le virage au jaune au niveau du culot) du saccharose (coloration jaunâtre au niveau de la zone intermédiaire) du lactose (coloration jaunâtre au niveau de la pente), et la production de H₂S qui colore le milieu en noir qui est due à la formation du sulfure de fer (voir figure 12).

Technique :

Un tube de milieu TSI (Triple Sugar Iron) est ensemencé, à partir d'une colonie (en stries sur la pente puis en piquête centrale profonde dans le culot). Le tube n'est pas vicié complètement. Il est ensuite incubé 18 heures à 37°C.



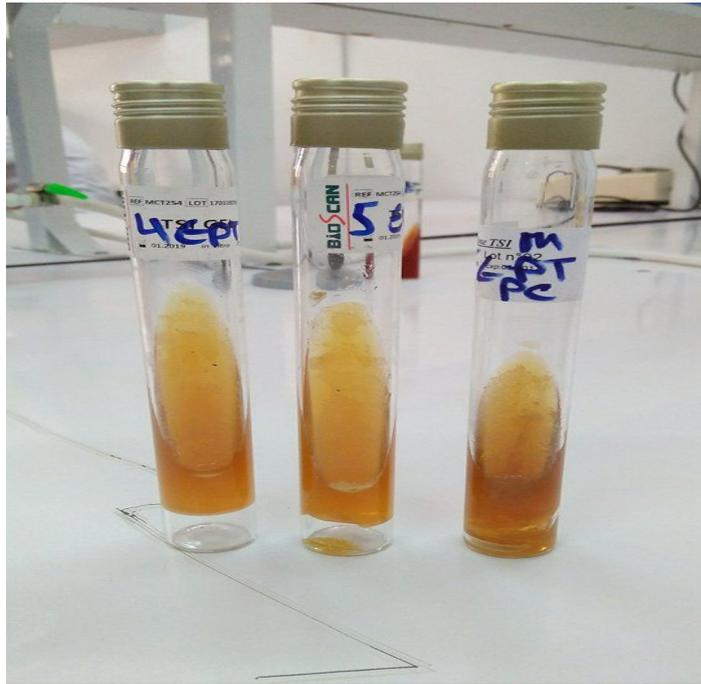


Figure 12 : Tubes du milieu TSI (Photo originale, 2018)

III.2.4.1.1.2. Test d'urée et indole :

a) Uréase:

L'uréase est une enzyme hydrolysant l'urée, son action est détectée par le suivi de l'alcalinisation.

Technique :

Racler à l'aide d'une anse la surface du milieu TSI et faire une suspension en milieu urée-tryptophane, étuver.

Résultats :

Coloration rouge \longrightarrow alcalinisation du milieu suite à l'hydrolyse de l'urée et formation de carbonate d'ammonium (uréase +).

Si le milieu persiste orange \longrightarrow pas d'alcalinisation (uréase -).

b) Indole :

Se fait sur milieu urée-tryptophane, c'est un milieu complexe qui fournit un ensemble de résultats utiles à l'identification de nombreux germes bactériens notamment les Enterobacteriaceae. Le test permet de déterminer si la bactérie possède la tryptophanase qui dégrade le tryptophane pour donner de l'indole et de l'acide pyruvique et l'ammoniac après addition du réactif de Kovacs qui réagit avec l'indole et forme un composé coloré en rouge.

Résultats :

Anneau rouge	————→	réaction positive (indole +).
Anneau jaune	————→	réaction négative (indole -).

III.2.4.2.3. Identification biochimique par API 20 E :**a) Objectif :**

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

b) Principe :

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

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanément ou révélés par l'addition de réactifs (figure 13).

c) Mode opératoire :**c-1. Préparation de la galerie :**

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

- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

c-2. Préparation de l'inoculum :

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

c-3. Inoculation de la galerie :

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le 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 vaseline.

- Refermer la boîte d'incubation ;
- Incuber à 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 V) 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 VP1 et VP2, et attendre au minimum 10 mn, au test VP.

e) 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 API web™, en entrant manuellement le profil à 7 chiffre.



Figure 13 : Galerie API 20 E après incubation et ajout des réactifs (Photo originale, 2018)

III.2.4.3 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).

Tableau 5 : Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme

Famille	Antibiotiques testés	Charge du disque	Sigle	Origine
---------	----------------------	------------------	-------	---------

Bétalactamines	Amoxicilline/Ac clavulanique	20/10 µg	AUG30	Liofilchem, Italie
	Ampicilline	10 µg	AMP 10	
	Céfotaxime	30 µg	CAZ	
Phénicolés	Chloramphénicol	30 µg	C 30	
Polypeptides	Colistine	10 µg	CS 50	
Aminosides	Néomycine	30 µg	N 30	
	Gentamicine	10 µg	CN ¹⁰	
Sulfamides	Triméthopri- m-sulfaméthoxazole	(25) µg	SXT ²⁵	Bioanalyse, France
Furanes	Nitrofurantoïne	300 µg	F 300	
Cyclines	Tétracycline	30 µg	TE 30	
Quinolones	Acide nalidixique	30 µg	NA 30	Bio-rad, France
	Enrofloxacin	5 µg	ENR 5	

III.2.4.3.1. 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 à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

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

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

III.2.4.3.2. Technique :

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

A- Inoculum :

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

B- Ensemencement :

- ❖ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- ❖ L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- ❖ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;
- ❖ Répéter l'opération trois 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 (2fois).

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

C- Application des disques d'antibiotiques :

- ❖ Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre comme indiqué dans le tableau 6:

Tableau 6: Application des disques d'antibiotique par boîte de pétri

Boîtes	LES DISQUES D'ANTIBIOTIQUES					
	1	STX	CS	NA	TE	C
2	AUG	CTX	AMP /	ENR	CN	N

- ❖ Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 30 mm, centre à centre ;
- ❖ Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

D- Incubation :

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

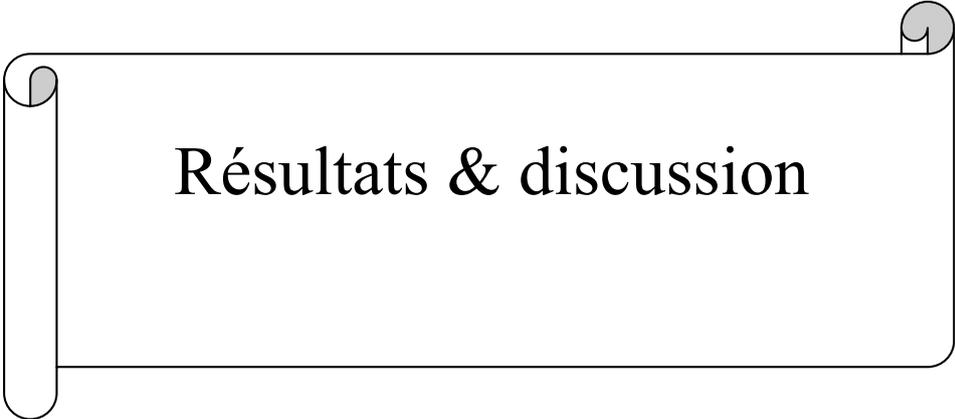
III.2.4.3.3. Lecture :

- ❖ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée ;
- ❖ Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI des entérobactéries, figurant dans les tables de lecture de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale Médecine humaine et vétérinaire;
- ❖ Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

III.2.4.4. Analyse statistique :

Le traitement statistique des données et les présentations graphiques sont réalisés à l'aide d'un logiciel Microsoft Office Excel 2007.

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



Résultats & discussion

CHAPITRE II : RESULTAT ET DISCUSSION

I. Rappel de l'objectif

Notre objectif est :

- L'isolement et l'identification de germe *Escherichia coli* à partir du foie (organe filtre concentrant les germes) de sujets présentant de la congestion généralisée des organes et de la carcasse, des lésions d'aérosacculite, de péricardite et de périhépatite, pathognomoniques de la colibacillose lors de l'autopsie ;
- L'étude de leur sensibilité vis-à-vis de douze molécules antibiotiques.

II. Bactériologie :

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

Sur les 40 prélèvements, 30 isolats d'*E.coli* sont récoltés, soit 75% de nos sujets étaient positifs. Pour les 10 sujets restants soit 25%, *Proteus mirabilis* était présente chez 20 % des prélèvements tandis que la culture était négative dans 5% des cas (figure 11).

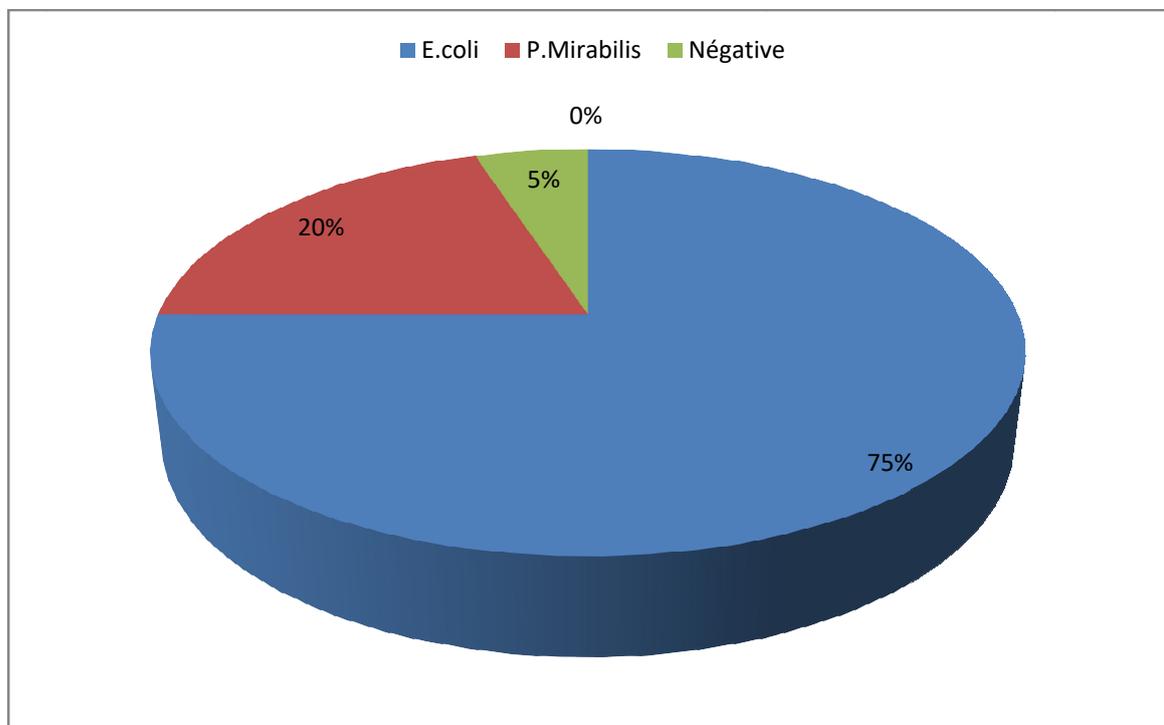


Figure 14: Pourcentage des souches isolées lors de notre étude.

Dans notre étude, la bactérie *E. coli* a présenté la fréquence d'isolement la plus haute, ce qui confirme le rôle de l'examen de l'aspect extérieur de la carcasse et des lésions comme diagnostic préalable de la maladie. Pour ce qui est de la présence éventuelle d'autres entérobactéries, à savoir *P. mirabilis*, ceci pourrait être expliqué par :

- Un éventuel défaut lors du prélèvement : le respect de l'aseptise lors de récupération des organes ;
- L'état de fraîcheur des sujets : après la mort du sujet, une multiplication peut avoir lieu et sortie de la flore intestinale qui envahit les organes et les contamine ;
- Possibilité de coïnfections.

II.2. Antibiotogramme :

Douze antibiotiques sont testés sur chacune des **30** souches d'*Escherichia coli* isolées.

Une lecture impérative est utilisée, qui détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec la table de lecture des entérobactéries (vétérinaire) selon les recommandations de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 7^{ème} édition (2015) (voir annexe IV) :

Les résultats de l'antibiogramme des souches *Escherichia coli* isolées des organes (foies) des animaux présentant les lésions de la colibacillose respiratoire et la colisepticémie sont présentés dans le tableau des résultats (voir annexe VI).

Le tableau 7 et la figure 12 montrent les pourcentages de résistances des souches *E. coli* isolées lors de notre étude:

Tableau 7: Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *E. coli*

		Nombre de Souches <i>E. coli</i> isolées et testés N=30			
Familles	Antibiotiques testés	Nombre de souches (%)			
		R	I	S	R+I
Bétalactamines	Amoxicilline/Ac clavulanique	14(46,66)	4(13,33)	12(40)	18(60)
	Ampicilline	20(66,66)	6(20)	4(13,33)	26(86,66)
	Céfotaxime	1(3,33)	0(0)	29(96,66)	1(3,33)

Cyclines	Tétracycline	29(96,66)	1(3,33)	0(0)	30(100)
Quinolones	Acide Nalidixique	28(93,33)	2(6,66)	0(0)	30(100)
	Enrofloxacin	23(76,66)	3(10)	4(13,33)	26(86,66)
Sulfamides	Triméthoprim-sulfaméthoxazole	25(83,33)	0(0)	5(16,66)	25(83,33)
Aminosides	Gentamicine	0(0)	0(0)	30(100)	0(0)
	Néomycine	11(36,66)	5(16,66)	14(46,66)	16(53,33)
Polypeptides	Colistine sulfate	0(0)	0(0)	30(100)	0(0)
Furanes	Nitrofurantoïne	9(30)	4(13,33)	17(56,66)	13(43,33)
Phénicolés	Chloramphénicol	3(10)	0(0)	27(90)	3(10)

R: Résistante

I: Intermédiaire

S: Sensible

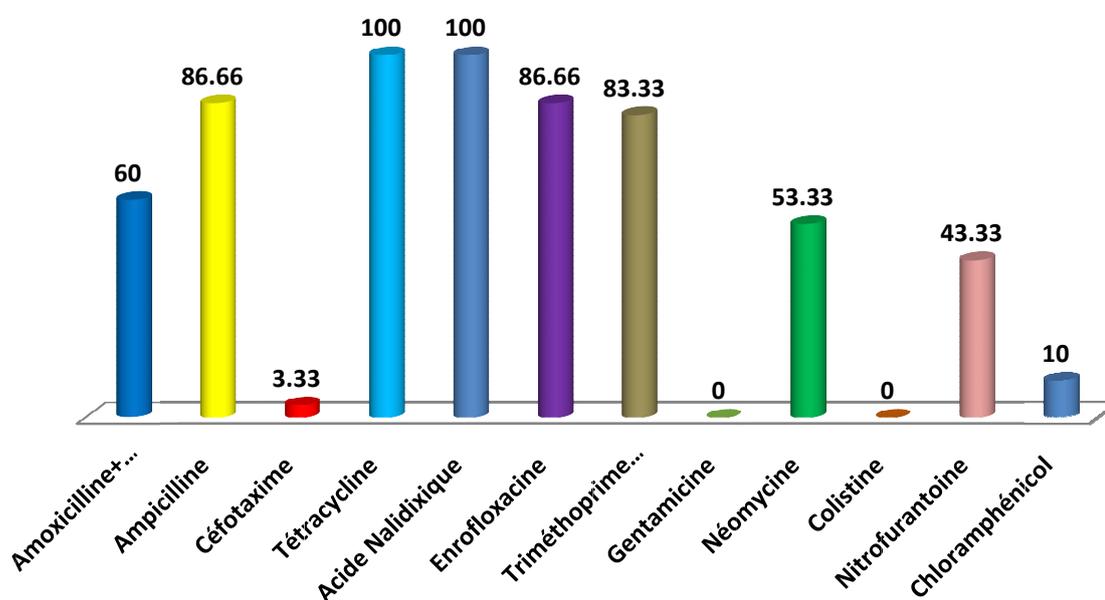


Figure 15 : Pourcentages de résistances des souches *E.coli*

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

- Les antibiotiques pour lesquels de très hauts niveaux de résistance sont observés (de 70 à 100) sont compris dans le Groupe I. Ces antibiotiques sont par ordre croissant : Triméthoprim/Sulfaméthoxazole (83,33%), Ampicilline et l'Enrofloxacin (86,66%), Tétracycline et Acide nalidixique (100%).

-Le Groupe II comprend des antibiotiques pour lesquels des niveaux moyens de résistance (de 30 à 70%) sont obtenus. Ce sont : Nitrofurane (43,33%), Néomycine (53.33%), Amoxicilline (60%).

-Le Groupe III comprend les antibiotiques pour lesquels des niveaux bas de résistance (de 0 à 30%) sont notés. Ce sont : Gentamicine et Colistine sulfate (0%), Céfotaxime (3,33), Chloramphénicol (10%).

Dans cette étude, il ressort clairement que les molécules les plus efficaces contre les colibacilles sont celles qui sont classées dans le Groupe III, avec des taux de sensibilité plus élevés par rapport aux autres antibiotiques de différentes familles. Le taux de sensibilité est de 100% pour la Colistine sulfate et la Gentamicine, de 96,67% pour le Céfotaxime et de 90% pour le Chloramphénicol. Cependant, la gentamicine et le chloramphénicol sont parmi les molécules d'antibiotiques interdites en médecine vétérinaire en Algérie, et le Céfotaxime n'est pas autorisées chez la volaille.

Tableau 8:Fréquence des antibiorésistances dans notre étude et pour d'autres études en Algérie

ATB	Nos Résultats(%)	Hafri et <i>al.</i> (2017)%	Hammoudi et Aggad (2008)%	Messai et <i>al.</i> (2013)%
Ampicilline	86,66	93,54	47	84.5
Amoxicilline/ Ac Clavulanique	60	80,64	47	87.8
Céfotaxime	3,33	/	/	/
Trimethoprime / sulfamethoxazole	83,33	80,64	42	82.2
Colistine	0	0	3	5.5
Acide nalidixique	100	80,64	/	96.7
Tétracycline	100	100	82	98.3
Chloramphénicol	10	58,06	/	45.6
Nitrofurane	43,33	12,90	/	18.9
Enrofloxacin	86,66	77,41	6	72.2
Néomycine	53,33	45,16	/	75
Gentamicine	0	16,12		5.5

II.3. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques

II.3.1. Les β -lactamines

Les résultats mettent en évidence une forte résistance des *E. coli* à cette famille d'antibiotiques, avec des taux de 86,66% pour l'Ampicilline et de 60% pour Amoxicilline/ Ac clavulanique. De plus, la résistance enregistrée vis-à-vis de Céfotaxime, avec un taux de 3,33%.

Pour Amoxicilline/ Ac clavulanique, un taux de résistance de **60%** est obtenu. Ce résultat est élevé par rapport aux résultats de Hammoudi et Aggad (2008) dans la région ouest d'Algérie (47%), Cependant, nos résultats sont inférieurs à ceux de Messaï et *al.* (2013) dans la région de l'est d'Algérie (87.8%) et ceux de Hafri (2017) dans les régions centre et est d'Algérie avec un taux de (80,64%).

Pour Ampicilline un taux de résistance de **86,66%** est obtenu. Ce résultat est élevé par rapport aux résultats de Hammoudi et Aggad (2008) avec 47% et de Messai et *al.* (2013) avec (84,5%). Néanmoins, ils sont inférieurs à ceux de Hafri et *al.*(2017) où elles ont enregistrées un taux de 93,54%.

Ces taux élevés de résistance vis-à-vis de l'Amoxicilline / Ac clavulanique et de l'Ampicilline sont probablement liés à l'utilisation abusive et anarchique des β -lactamines dans les élevages avicoles sans avis de vétérinaire. Il existe une diversité de mécanismes de résistances du germe vis-à-vis de cette famille, soit par diminution de l'affinité du β -lactame vis-à-vis des PLP et la diversité des mécanismes de résistances des *E.coli* vis-à-vis de cette famille comme rapporté par Gaudy et Buxeraud (2005), soit par production de β -lactamases comme rapporté par Quintiliani et Courvalin (1995).

II.3.2. Les Tétracyclines

Pour cette famille d'antibiotiques, un taux de résistance de **100%** est obtenu vis-à-vis de la tétracycline, cette molécule renferme un taux de résistance très élevé.

Nos résultats sont identiques à ceux de Hafri et *al.* (2017). Ils sont supérieurs à ceux de Hammoudi et Aggad (2008) avec (82%) et ceux de Messai et *al.* (2013) avec (98.3%).

Les tétracyclines représentent les plus anciennes molécules utilisées, également en thérapie que préventivement, ces molécules ont une activité bactériostatique et ils ont une bonne

diffusion tissulaire et intracellulaire comme rapporté par Gaudy et Buxeraud (2005), ils ont aussi été utilisés comme "facteurs de croissance", engendrant des résistances très élevées en aviculture. La persistance et l'augmentation croissante de cette résistante sont attribuées, en partie, à l'usage intempestif de cette famille d'antibiotiques à large spectre, mais également à leur incorporation systématique dans l'alimentation des animaux d'élevage destinés à la consommation humaine, et à des doses souvent sub-thérapeutiques, en prophylaxie ou dans le but de stimuler la croissance et d'améliorer le rendement. Cette dernière possibilité est évoqué ya plus de 50 ans, comme cause probable de l'apparition des souches résistantes comme rapporté par Abdennebi (2006).

II.3.3. Les quinolones

Dans cette étude, la sensibilité des souches isolées est testée vis-à-vis de l'acide nalidixique, quinolone de première génération, et l'enrofloxacin, quinolone de troisième génération. Les taux de résistance sont de **100%** pour l'acide nalidixique et de **86,66%** vis-à-vis de l'enrofloxacin.

Pour l'Acide nalidixique, nous avons obtenu des valeurs supérieures à ceux enregistrés par Hafri et *al.* (2017) avec un taux de (80,64%) et ceux de Messai (2013) avec un taux de (96.7%).

En ce qui concerne l'Enrofloxacin notre résultat de **86,66%** est aussi élevé par rapport aux résultats obtenu par Hafri et *al.* (2017) avec un taux de (77,41%), et aux ceux de Messai et *al.* (2013) avec une valeur de (72.2%).

La résistance aux quinolones est exclusivement liée à des mutations chromosomiques :

- Mutations sur les gènes codant pour les topo-isomérases, entraînant une perte d'affinité de l'enzyme pour les quinolones ;
- Augmentation du transport actif de l'antibiotique hors de la bactérie comme signalé par Gaudy et Buxéraud (2005) et Nauciel et Vildé (2008).

Ces taux très élevés de résistance à cette famille d'antibiotiques peuvent être expliqués, d'une part, par la forte utilisation de ces molécules en raison de leur grande disponibilité sur le marché algérien, et surtout par la présence de génériques à prix très abordables, alors qu'il ya 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.

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

II.3.4. Les sulfamides

En thérapeutique, les sulfamides se retrouvent dans trois classes médicamenteuses : les anti-infectieux, les antidiabétiques oraux et les diurétiques.

Pour cette famille d'anti-infectieux, la sensibilité des souches est testée vis-à-vis de l'association triméthoprime/sulfaméthoxazole, connue sous le nom commercial de Bactrim®.

Nos résultats sont de **83,33%**. Ces derniers sont élevés par rapport aux résultats de Hammoudi et Aggad (2008) où ils ont enregistré un taux de (42%), à ceux de Hafri *et al.* (2017) avec un taux de (80,64%) et à ceux obtenus par Messai *et al.* (2013) avec un taux de (82.2 %).

Leur spectre d'action, théoriquement large, englobe la majorité des espèces bactériennes à Gram + et à Gram -

Les taux importants enregistrés, également dans notre étude que par d'autres auteurs, est probablement la conséquence de la très importante prescription de cet anti-infectieux, utilisé notamment dans la prévention contre les salmonelles, et aussi lors de coccidioses. Cette molécule est utilisée quasi-systématiquement en association avec des anticoccidiens dans le traitement et la prévention de ces dernières, conduisant ainsi à son inefficacité contre les colibacilles.

II.3.5. Les aminosides

La sensibilité des souches isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de deux molécules de cette famille d'antibiotiques, que sont la néomycine, et la gentamicine.

Pour la néomycine, nous avons obtenu un taux de résistance de **53.33%**. C'est un taux inférieur à celui de Messai *et al.* (2013) avec (75%). Néanmoins, il est supérieur à celui de Hafri *et al.* (2017) avec un taux estimé à hauteur de 45,16%.

Pour la gentamicine, nos résultats révèlent une absence totale de la résistance, contrairement à ceux de Messai *et al.* (2013) avec (5.5%) et ceux de Hafri *et al.* (2017) avec (16,12%).

La forte sensibilité des souches *E.coli* vis-à-vis de la gentamicine est due au non utilisation de cet antibiotique dans les élevages avicoles d'où un taux de résistance très faible.

En pratique, il existe des contraintes quant à son utilisation : dans certains pays, comme l'Iran, la gentamicine n'existe que sous la forme injectable (très récemment en poudre), forme intéressante pour les éleveurs car l'administration de ce produit requiert une main-d'œuvre spécialisée qui coûte cher. De plus, la manipulation des sujets provoque un stress et peut rendre la situation délicate. Les injections ne sont pas tolérées chez le poulet, spécialement lors de colibacillose, comme rapporté par Saberfar et al. (2008).

II.3.6. Les polypeptides

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

Nos résultats sont inférieurs à ceux enregistrés par Hammoudi et Aggad (2008) estimés à hauteur de 3% et de ceux de Messai et al. (2013) avec 5.5 %. Ils sont semblables à ceux rapportés par Hafri et al. (2017) avec 0%.

Ce taux nul de résistance peut être expliqué par l'utilisation prudente de cette molécule en élevage avicole dans la région étudiée car elle ne franchit pas la barrière intestinale et est donc inactive *per os* sur les colibacilles systémiques. Elle est cependant utilisée en association avec les β -lactamines car cette association procure un effet synergique, et peut aider à la maîtrise des colibacilles pathogènes respiratoires encore en situation intestinale.

II.3.7. Les phénicolés

La sensibilité des souches *E. coli* isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de la molécule la plus ancienne de cette famille, le chloramphénicol. Nous enregistrons un taux de résistance de **10%**.

Ce médicament n'est plus sur le marché officiel. Ce taux partiellement élevé serait donc le fait de la persistance d'une résistance acquise antérieurement, d'une résistance *croisée* ou plus vraisemblablement à une utilisation illégale de cet antibiotique. La même remarque est valable pour toute autre molécule interdite, entre autres les nitrofuranes.

II.3.8. Les furanes :

La sensibilité de nos souches est testée vis-à-vis du nitrofurane lequel un taux de résistance de **43,33 %** a été enregistré.

Cet antibiotique ayant été retiré de la nomenclature vétérinaire et n'ayant été à aucun moment administré lors de cette étude, tout laisse supposer que la résistance observée est le fruit d'une résistance croisée. Elle aurait dans ce cas un support plasmidique du fait de l'émergence rapide de souches porteuses de plasmides de multirésistance aminoglycoside et Nitrofurane, ou, comme indiqué précédemment, en raison d'une utilisation illégale.

II.4. Les multirésistances :

Les taux de multirésistance sont présentés dans le tableau 9 et la figure 13 :

Tableau 9 : Pourcentages de multirésistances des souches *E.coli* aux antibiotiques

Nombre des antibiotiques	Nombre des souches	Le pourcentage %
0	0	0
1	0	0
2	0	0
3	1	3,33
4	8	26,66
5	8	26,66
6	6	20
7	4	13,33
8	3	10
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
Total	30	100

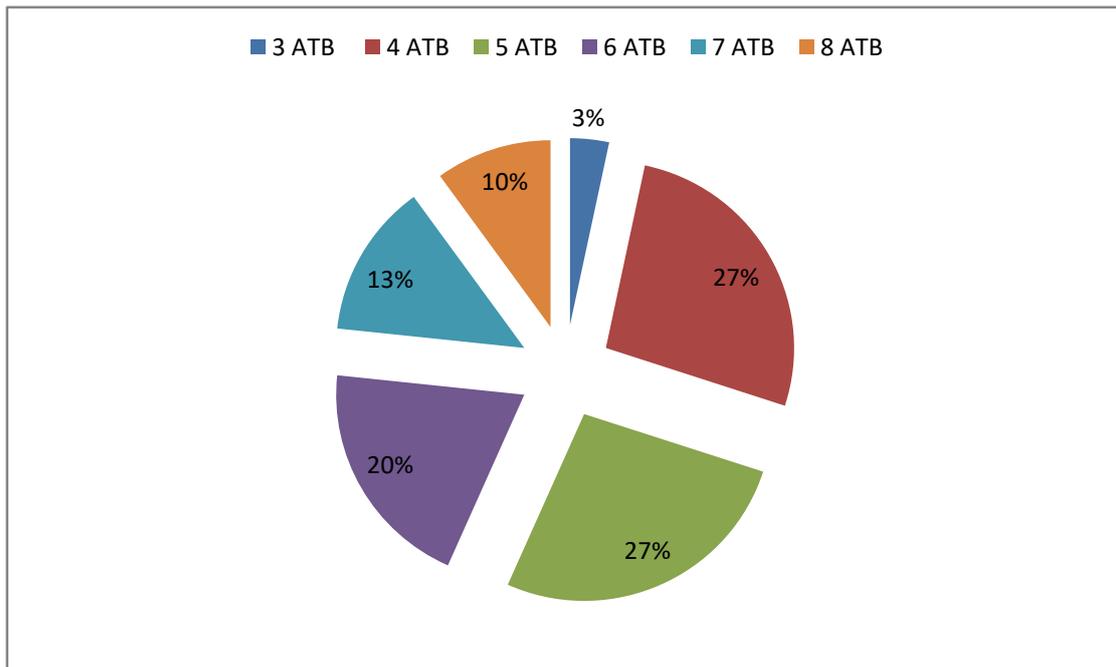
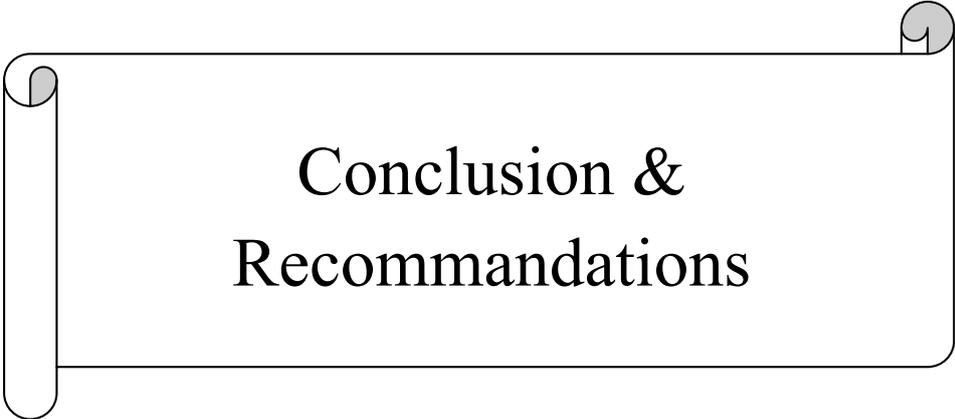


Figure 16: Pourcentages des multirésistances des souches *E.coli* isolées

Il paraît que les forts pourcentages de multirésistance sont enregistrés vis-à-vis de 4 et 5 antibiotiques avec un pourcentage de 26,66%. Deux autres valeurs plus ou moins inquiétantes sont enregistrées à l'encontre de 6 et 7 antibiotiques et sont estimées à hauteur de 20% et 13,33% respectivement.

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

Cette multirésistance est alarmante car elle présente un énorme risque pour l'élevage avicole lors de transmissions plasmidiques 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 de mortalité élevés. D'autre part, 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.



Conclusion &
Recommendations

La colibacillose est responsable de pertes économiques importantes dans les élevages avicoles. Les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC) sont les agents étiologiques de cette infection.

De nos jours, les moyens de lutte sont représentés essentiellement par l'antibiothérapie généralisée et l'application des moyens de biosécurité. Cette pathologie reste fréquente et l'utilisation anarchique et abusive des antibiotiques par les aviculteurs, sans avis vétérinaire, augmente les risques d'émergence de bactéries pathogènes résistantes « pression de sélection ».

C'est précisément dans cette optique que s'inscrit la présente étude, qui se propose d'apporter une contribution à une meilleure caractérisation phénotypique et génotypique des APEC.

Les analyses bactériologiques ont permis d'isoler et d'identifier la bactérie *Escherichia coli* avec une prévalence de 75%. Cette valeur dénote de l'insuffisance et du dysfonctionnement de l'organisation de lutte contre ce pathogène.

L'étude des antibiogrammes réalisés sur les 30 souches isolées a mis en évidence une résistance exprimée vis-à-vis de nombreuses molécules d'antibiotiques. Le taux de résistance le plus haut a été observé à l'encontre de la tétracycline et l'acide nalidixique (100%), l'ampicilline l'enrofloxacin (86,66%), la triméthoprim/Sulfaméthoxazole (83,33%), l'amoxicilline/ acide clavulanique (60%). Une résistance moyenne a été enregistrée vis-à-vis de la néomycine (53,33%), nitrofurane (43,33%). Toutefois, une faible résistance a été exprimée à l'encontre du chloramphénicol (10%) et de la céfotaxime (3,33), gentamicine (0%), et à la colistine (0%).

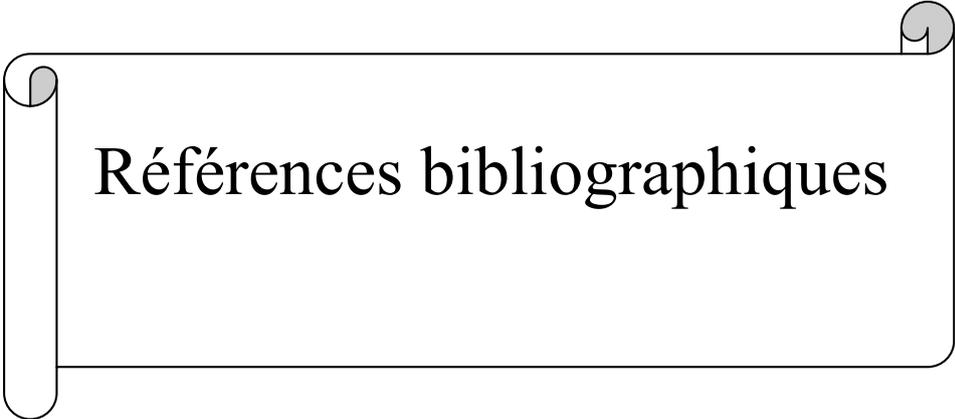
Il est bien évident de conclure que les résultats de la présente étude affirment nos spéculations sur l'incidence de la maladie qui s'est notablement accrue, et qui reste imputable au développement des méthodes d'élevage intensif dans tous les secteurs de l'aviculture. Cette situation nous amène à nous préoccuper davantage de notre production animale. Les colibacilloses constituent une vraie menace pour la productivité de l'aviculture et pour la santé publique.

Quant aux résultats surprenants de l'antibiorésistance, ce constat alarmant serait expliqué en majeure partie par l'utilisation anarchique et incontrôlée des antibiotiques dans le traitement des infections sans qu'il y ait recours à l'antibiogramme. Il paraît donc primordial de restreindre au minimum la diffusion de résistances bactériennes. L'optimisation de l'utilisation des antibiotiques chez l'homme et l'animal est actuellement une des actions prioritaires proposées par les réunions d'experts scientifiques.

La connaissance des facteurs favorisant l'apparition de ces pathologies et le recours à d'autres moyens de lutte alternatifs contre ces bactéries seraient une nécessité.

En vue de réduire les forts taux de résistance individuelle et multiple des souches *E. coli* d'origine aviaire vis-à-vis des molécules d'antibiotiques, responsables des pertes économiques, et afin de rentabiliser l'élevage aviaire, les recommandations suivantes peuvent être émises :

- Organiser l'utilisation des antibiotiques chez les animaux en rendant leur prescription obligatoire par le vétérinaire ;
- Fournir des instructions à l'intention des vétérinaires afin de réduire l'utilisation abusive et erronée des antibiotiques chez les animaux d'élevage ;
- Sensibiliser les éleveurs sur l'utilisation des antibiotiques sans avis vétérinaire ;
- Entreprendre un traitement intuitif en parallèle de l'antibiogramme afin de limiter les pertes économiques si elles sont redoutées, à condition de respecter un protocole diagnostique rigoureux ;
- Réaliser l'antibiogramme afin de prescrire la molécule de choix ;
- Respecter les normes d'ambiance (température, hygrométrie, aération pour éviter l'accumulation des gaz, ammoniac en particulier) et d'hygiène est une nécessité absolue, tant pour des objectifs zootechniques que pour limiter la pression microbienne.



Références bibliographiques

A

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

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

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

Archambaud M., 2009 : Les antibiotiques. Laboratoire bactériologie et hygiène CHU Rangueil Toulouse. aviaires dans la colibacillose. Thèse de Philosophiae Doctor (Ph.D.)

B

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

BENABBOU TA., 2012 : Antibiorésistance des bactéries lactiques isolées des produits artisanaux algériens. Thèse de magister en biotechnologie, UNIVERSITE D'Oron.

Benasri CM., 2009: Reproduction expérimentale d'une colibacillose chez le poulet Comparaison de l'efficacité d'une Fluméquine et d'une Amoxicilline par rapport à une Enrofloxacin de référence dans le traitement de cette pathologie. Thèse de Doctorat en Sciences Vétérinaires, Université Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département des Sciences Vétérinaires.

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.

Bezoen et al., 1999: Emergence of a debate: AGPs and public health. Human health and antibiotic growth promoters (AGPs): Reassessing the risk. HAN, Heidelberg Appeal Nederland Foundation.

BONNET J., 2014 : Utilisation raisonnée des antibiotiques en élevage porcin. Démarche d'accompagnement dans sept élevages. Thèse de doctorat vétérinaire, ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT.

Boucheron S., Mouline C., Payot S., Cloeckart A., Chaslus-Dancla E., 2003: Mécanismes de Résistance aux quinolones des *Escherichia coli* aviaires. FNRA. Cinquième Journée sdel a Recherche Avicole, Tours.

C

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

Cloud SS., Rosenberger JK., Frajes PA., Wilson RA., Odor EM., 1986: In vitro and in vivo characterization of avian *Escherichia coli*. I. Serotype, metabolic activity and antibiotic sensitivity. *Avian disease*, 29, (4):1084-1093.

COLLECTIF., 2008 : Résistance des micro-organismes aux agents antibactériens. In *Le Manuel Vétérinaire Merck*. 3rd ed française, Edition d'Après, Paris, 2053–2054.

Couriera M., 2017: Etude in vitro de la potentialisation d'antibiotiques contre des souches d'*E.COLI* O78K80 multi-résistantes isolées en élevage aviaire par les huiles essentielles. Thèse de Docteur Vétérinaire, l'Université Niversite Claude – Bernard - Lyon I.

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

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

D

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

Denyer SP., Maillard JY., 2002: Cellular impermeability and uptake of biocide and antibiotics in Gram-negative bacteria. *J. Appl. Microbiol. Symposium (Suppl.)* 92, 35S-45S.

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

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

Doucet N., 2006: Mutagenèse semi-aléatoire et analyse dynamique de la β -lactamase TEM-1 d'*Escherichia coli*. Thèse Doctorat en biochimie, Université de Montréal, Canada.

Duphin AL., 2010: Utilisation de l'enrofloxacin dans le traitement de la colibacillose du poulet de chair. Thèse de Docteur Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes.

en sciences vétérinaires, Université de Montréal.

F

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

Farmer JJ., 3rd, Davis BR., Hichman-Brenner FW., McWhorter A., Huntley-Carter GP., Asbury MA., Riddle C., Wathen-Grady HG., Elias C., Fanning GR., 1985: Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* **21**, 46-76.

G

Galimand M., Sabtcheva S., Courvalin P., Lambert T., 2005: Worldwide disseminated *armA* aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn1548. *Antimicrob Agents Chemother.* **49**, 2949–2953.

Gaudy C., et Buxeraud J ; 2005: Antibiotiques: Pharmacologie et Thérapeutique. Collection pharma 269 pages.

Ghalmi A., 2012 : La colibacillose aviaire: sérotypage et antibiorésistance des souches *Escherichia coli* isolées de poulets de chair, à l'abattoir de Bordj Menaiel. Thèse de magistère, Ecole National Supérieure Vétérinaire.

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

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

GROSS WB., 1991: Colibacillosis: Diseases of poultry, Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowo, 138-144.

Gross WG: Diseases due to Escherichia coli in poultry. **In: Gyles CL., 1994:** Escherichia coli in domestic animals and humans. Oxon. Cab international: Wallingford, p 237-259.

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

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

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

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

H

HAFRI S., CHABIRA B., BOUZIDI O., 2017 : Isolement, Identification et antibiogramme des souches E.colli responsables de colibacillose aviaire dans quelques élevages dans les régions centre d'Algerie. Thèse de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire.

Hammoudi A., Aggad H., 2008: Antibioresistance of Escherichia coli Strains Isolated from Chicken Colibacillosis in Western Algeria Turk. J. Vet. Anim. Sci. 32(2), 123-126.

K

Kaci A., Nouri M., Ferrah A., Kabli L., Azzouz H. 2001 : Conduite des élevages de poulets de chair en Algérie : Un sous- équipement chonique. Agroligne n° 18. Novembre-Décembre 2001: 17-19.

L

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

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

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

M

Maillard R., 2002 : Antibiothérapie respiratoire La Depeche Vétérinaire, 80, p15-17.

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

Mellata M., 2003: Rôle des facteurs de virulence des Escherichia coli pathogènes.

Messai CR., 2011: Fréquence profils d'antibiorésistance des souches d'E.coli isolée de poulet de chair atteints de colibacillose à l'abattoir avicole de Sétif.Thèse de magister. Ecole Nationale Vétérinaire page 26. 4.5.

Mevius et al., 1999: Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use for veterinary medicines. Report and qualitative risk assessment by the committee for veterinary medicinal products , Editions, le point veterinaire, p 1-57.

Mogenet L., Bezille P., Guyonnet J., Karembe H., 1997: Comparaison de la flumequine (flumisol) a l'Amoxicilline (Vetromoxin: poudre orale) dans deux modes d'administration par voie orale en traitement de la colibacillose du poulet approche pharmaco dynamique et clinique. *Rev. Med. Vet.* 148: 10: 793-80.

N

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

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

O

Orskov F., Genus I., 1986: Escherichia Castellani and Chalmers, 1919, 941 AL. In: N. R. Krieg and J. G Hold (eds). Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol 1, The Williams and Wilkins Co, Baltimore

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

Oxoby, 2002 : Etudes sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des angucyclinones. Thèse de docteur en chimie organique de l'université Bordeaux I, école doctorale des sciences chimiques.

P

Pages J., 2004 : Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. Médecine/Sciences, 346-51

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

Pichard E., 2002 : Malin Trop Afrique : Manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique. Editions John Libbey Eurotext 127, page 194.

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

Puterflam J., Souillard R., 2017: Maîtrise de la colibacillose aviaire en élevage de poulet de chair – COLISEE.

R

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

S

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

Saif YM., Fadly AM., Glisson JR., McDougald LR., Nolan KL., Swain DE., 2008: Colibacillosis: Diseases of poultry, page 712. Twelfth edition.

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.

Schwarz S., Chaslus-Dancla E., 2001: Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. Vet Res, **32** (3-4), 201-225.

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

Schwarz et al., 1996 : "A novel plasmid from Staphylococcus epidermidis specifying resistance to kanamycin, neomycin and tetracycline", J Med Microbiol 45,p 57-63.

Soulsby L., 2007: Antimicrobials and animal health : a fascinating nexus. J AntmicrobChemther 60 Suppl: i77-8.

Stordeur P., mainil J., 2002 : La colibacillose aviaire. Ann Méd Vét, **146**, 11-18.

T

TALBERT.M., WILLOQUET.G et GERVAIS.R., 2009 : Pharmaco clinique, Wolters Kluwer France, P 641, 648,655.

TOUTAIN PL., 2007 : Le médicament vétérinaire et le médicament humain : similitudes, différences et enjeux de santé publique. *In Congrès de physiologie, pharmacologie et thérapeutique.* [Ne ligne] Toulouse, 11-13 avril, ENVY-INRA, Toulouse. Disponible sur : http://physiologie.envt.fr/spip/IMG/ppt/final_med_veto_site_2007-2.ppt ; page consulter le 28 mai 2018.

V

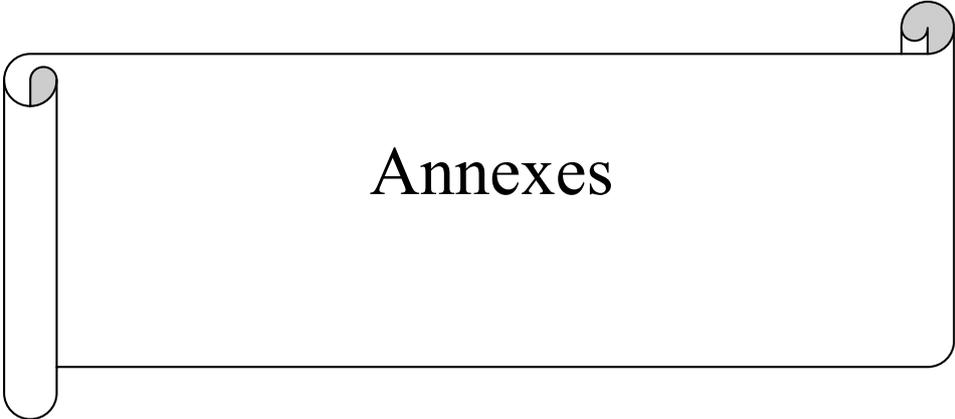
Villate D., 2001: Maladies des volailles. Manuel pratique. 2^{ème} édition. Editions France Agricole. 399 pages.

W

Widmann S., 2008: Interet de l'association entre l'enrofloxacin et la colistine ainsi que de l'enrofloxacin et la bromhexine dans le traitement des infections respiratoires aviaires. Thèse de Docteur Vétérinaire, l'Université Niversite Claude – Bernard - Lyon I.

Y

Yalla D., Merad AS., Mohamdi D., Ouarkorich MN., 2001 : Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb. **91**, 1-11.



Annexes

ANNEXE I

Compositions des Milieu utilisés :

1) Milieu d'enrichissement :

BHIB (BRAIN HEART INFUSION BROTH):

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

2) Milieux d'isolement :

a- gélose de Glucose- Lactose- Saccharose- H₂S / TSI (TRIPLE SUGAR IRON) :

La gélose TSI est un milieu d'identification rapide pour les entérobactéries, il permet de mettre en évidence la dégradation du glucose (avec ou sans production de gaz), du lactose, du saccharose et la production D'H₂S.

Composition :

- Peptone de viande 15g
- Proteose peptone 5g
- Extrait de viande 3g
- Extrait de levure 3g
- Glucose 1g
- Saccharose 10g
- Lactose 10g
- Citrate de fer ammoniacal 0,3g
- NaCl 5g
- Thiosulfate de sodium 0,3g
- Rouge de phénol 0,05g
- Agar 18g
- Eau distillée 1L
- pH =7,4

b- Milieu Urée- Indole :

- L-tryptophane 3g
- Phosphate dipotassique 1g
- Phosphate monopotassique 1g
- NaCl 5g

- Urée 20g
- Rouge de phénol 2,5g
- Eau distillée 1L
- pH = 6,7

c- Gélose Mac Conkey:

Milieu d'isolement des entérobactéries et permet la différenciation des bactéries lactose +, l'aspect des colonies d'*E. coli* sont rouges ou rose, pas mucoïde peut-être ronde avec un précipité opaque de sels biliaires.

Composition :

- Gelysate 17g
- Polypeptone 3g
- Lactose 10g
- Sels biliaires 5g
- Chlorure de sodium 5g
- Gélose 12,5g
- Rouge neutre 0,04
- Ph = 7,4

d- Gélose Hektoen :

Milieu sélectif permettent l'isolement et la différenciation des enterobacteriaceae pathogènes à partir des prélèvements biologiques.

Composition :

- Peptone de viande ou de la gélatine 10g
- Extrait de levure (facteur de croissance) 3g
- Lactose 12g
- Saccharose 12g
- Salicine 2g
- Chlorure de sodium 5g
- Thiosulfate de sodium 5g
- Sels biliaires 9g
- Citrate de fer d'ammoniacal 1,5g
- Fushine acide 0,1g
- Bleu de bromothymol 0,065g
- Agar (gélose) 14g
- ED qsp1L
- Ph=7,5

e- 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 :

Mueller Hinton :

Utilisé pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes.

Composition :

- Extrait de viande 3g
- Hydrolysate acide de caséine 17,5g
- Amidon 1,5g
- Agar 16g
- Eau distillée 1L
- pH = 7,3

ANNEXE II



Figure I: Milieu Mac Conkey (Photo originale 2018)



Figure II: Milieu Héктоen (Photo originale 2018)



Figure III: Milieu TSI (Triple Sugar Iron) (Photo originale 2018)



Figure IV: Milieu urée-indole (Photo originale 2018)

ANNEXES III:



Figure III: Huile de vaseline (Photo originale 2018))



Figure IV: Réactifs additionnées pour la lecture de la galerie API 20 E après incubation (Photo originale 2018)

ANNEXE IV:

Table de lecture 34 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries* (Médecine Vétérinaire)

Antibiotiques testés	Charges des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline - Toutes espèces animales - Chien : <i>Escherichia coli</i>	10µg	≤13	14-16	≥17	≥32	16	≤8	La réponse pour l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
	-	-	-	-	≥1	0,5	≤0,25	La valeur ≤8 doit être utilisée pour les infections du tractus urinaire, cette valeur correspond à une administration orale de 25.6mg/kg Pour l'amoxicilline , elle est de 11 mg / kg administrées cinq doses consécutives à 8 heures d'intervalle . La concentration des urines produites chez le chien est > 300µ/ml
Amoxicilline+ Acide clavulanique*	20/10 µg	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≤8/4	Le disque d'AMC doit être appliqué près du disque de CTX ou TIO, une image de synergie indique la présence d'une BLSE, Après confirmation, la souche BLSE+doit être rendue résistante à toutes les β-lactamases (sans tenir compte des valeurs critiques)
Céfalotine	30 µg	14	15-17	≥18	≥32	16	≤8	La réponse à la céfalotine est valable pour toutes les céphalosporines de première génération.
Céftiofur	30 µg	≤17	18-20	≥21	≥8	4	≤2	
Néomycine	30 µg	≤13	14-17	≥18	≥64	32	≤16	La réponse pour la néomycine est valable pour la kanamycine
Gentamicine** - Espèce canine - Espèce équine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4	
		≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2	Ces valeurs sont inspirées de la pharmacocinétique (utilisant des doses cliniques acceptables) et des données pharmacodynamiques, pour les chiens, la dose de la gentamicine modifiée est : 10mg /kg /24h en IM.
		≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2	Ces valeurs sont inspirées de la pharmacocinétique (utilisant des doses cliniques acceptables) et des données pharmacodynamiques, pour les chevaux, la dose de la gentamicine modifiée est : 6.6mg /kg /24h en IM.
Sulfisoxazole	300 µg	≤12	13-16	≥17	≥512	-	≤256	La réponse pour le sulfisoxazole est valable pour les sulfonamides
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤10	11-15	≥16	≥4/76	-	≤2/38	La valeur ≤2/38 peut être utilisée pour les isolats des infections du tractus urinaire.
Tétracyclines	30 µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤ 4	Le test de sensibilité à la tétracycline est valable pour tester la sensibilité aux chlortétracyclines, doxycyclines et oxytétracyclines. Les organismes sensibles à la tétracycline sont aussi considérés comme sensibles à la doxycycline mais certains organismes classés comme intermédiaires ou résistants à la tétracycline peuvent être sensibles à la doxycycline ou à la minocycline ou aux deux.
Acide nalidixique/ fluméquine	30 µg	≤13	14-18	≥19	≥32	-	≤16	La réponse pour l'acide nalidixique est valable pour la fluméquine
Acide oxolinique	10 µg	≤17	-	≥20	>4	-	≤ 2	
Enrofloxacin Espèce Aviaire (poulet et dinde) Espèce féline et canine	5 µg	≤16	17-20	≥21	≥2	0,5-1	≤0,25	
		≤16	17-22	≥23	≥2	0,5-1	≤0,25	
		≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0,5	
Marbofloxacin (même valeurs pour l'espèce féline et canine)	5 µg	≤14	15-19	≥20	≥4	2	≤1	
Danofloxacin (espèce bovine)	5 µg	-	-	≥22	-	-	≤0,25	
Colistine	10 µg	-	-	-	>2	-	≤2	
Nitrofurantoïne**	300 µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32	
Chloramphénicol**	30 µg	≤12	13-17	≥18	32≥	16	≤8	

Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved standard –Third Edition M31-A3 . Vol.28 N° 8.Replaces M31-A2 . Vol.22 N° 6.February 2008.

*Antibiotique testé seulement pour la recherche des β-lactamases

** Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiologie

ANNEXES V:

Tableau II : Tableau de lecture API 20 E

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0.223	B-galactosidase (Ortho NitroPhenil-βD-Galactopyranosidase)	Incolore	Jaune (1)
ADH	L-arginine	1.9	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé (2)
LDC	L-lysine	1.9	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
ODC	L-ornithine	1.9	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
CIT	Trisodium citrate	0.756	Utilisation du citrate	Jaune	Bleu-vert/Bleu (3)
H₂S	Sodium thiosulfate	0.075	Production d'H ₂ S	Vert pâle/jaune	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	0.76	Uréase	Incolore/grisâtre	Rouge/orangé (2)
TDA	Tryptophane	0.38	Tryptophane désaminase	TDA/ immédiat	
				jaune	Marron-rougeâtre
IND	Tryptophane	0.19	Production d'indole	James/ immédiat	
				Incolore vert pâle/ jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	1.9	Production d'acétoïne (VogesProskauer)	VP1+VP2/ 10 min	
				Incolore/rose pâle	Rose / rouge (5)
GEL	Gélatine (origine bovine)	0.6	Gélatinase (gélatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1.9	Fermentation/oxydation (Glucose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D- mannitol	1.9	Fermentation/oxydation (Mannitol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	1.9	Fermentation/oxydation (Inositol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	1.9	Fermentation/oxydation (Sorbitol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	1.9	Fermentation/oxydation (Rhamnose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	1.9	Fermentation/oxydation (Saccharose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	1.9	Fermentation/oxydation (Melibiose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	0.57	Fermentation/oxydation (Amygdaline) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	1.9	Fermentation/oxydation (Arabinose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre		Cytochrome-oxydase	Ox/ 5-10 mn	
				Incolore	Anneau violet

- (1) Une très légère couleur jaune est également positive.
- (2) Une couleur orange apparaissant après 36-48h d'incubation doit être considérée négative.
- (3) Lecture dans la cupule (zone aérobie).
- (4) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.
- (5) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.

ANNEXE VI:

Tableau III: Résultats de l'antibiogramme

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

27	6 R	6 R	34	29 S	24 S	6 R	14 S	12 R	28 S	8 R	9 R	7 R
28	7 R	7 R	32	28 S	14 I	6 R	13 S	17 S	26 S	7 R	9 R	7 R
29	6 R	6 R	38	31 S	28 S	6 R	15 S	21 S	29 S	16 I	21 I	17 I
30	6 R	6 R	34	27 S	27 S	6 R	13 S	17 S	30 S	6 R	13 R	6 R

Résumé

La colibacillose aviaire est à la fois une maladie grave (les symptômes qu'elle entraîne peuvent provoquer la mort d'un grand nombre d'animaux ou leur élimination après abattage suite à des lésions entraînant la saisie de la carcasse) et une maladie répandue (souvent citée comme la maladie la plus fréquente en élevage de poulet chair).

Elle est la source de pertes économiques majeures en élevage avicole, de par les saisies en abattoir ainsi que les retards de croissance, le taux de mortalité et les frais d'antibiothérapie.

L'objectif de cette étude est d'isoler la bactérie *Escherichia coli* de poulets de chair présentant des lésions de colibacillose, d'évaluer la fréquence d'antibiorésistance de ces souches vis-à-vis de 12 molécules d'antibiotiques ainsi que le pourcentage des multirésistances.

Pour cela, à partir de 40 foies d'animaux malades, nous avons isolé 30 souches d'*E. coli* sur deux milieux de géloses différentes Mac Conkey et Hektoen après enrichissement sur milieu BHIB. Nous les avons ensuite identifiées biochimiquement sur milieu TSI et Urée-Indole et à l'aide du système Api 20 E. L'antibiogramme a été effectué selon la méthode de diffusion de disques sur gélose Muller Hinton selon les normes du NCLLS recommandées par l'OMS.

Nos résultats montrent des taux élevés pour les tétracyclines et acides nalidixiques avec un taux de (100%), l'Ampicilline et l'Enrofloxacin (86,66%), la Triméthoprim / Sulfaméthoxazole avec un taux de (83,33%). Des pourcentages moyens sont retrouvés pour la Amoxicilline/ Acide clavulanique, Néomycine et le Nitrofurane, et de faibles fréquences de résistance pour le chloramphénicol, Céfotaxime, la Gentamicine et la colistine sulfate.

Il n'existe aucune souche qui ne soit résistante à aucun antibiotique.

70,00% des souches sont résistantes à au moins quatre antibiotiques.

Il n'existe pas de souches qui sont résistantes à 12 antibiotiques.

Ces résultats élevés peuvent être expliqués par l'utilisation abusive et anarchique des antibiotiques, sans recours préalable à l'antibiogramme.

En conclusion, il ressort de cette étude que les antibiotiques sont de moins en moins efficaces contre les colibacilles. Il est plus que jamais nécessaire de systématiser l'antibiogramme avant chaque traitement afin de prescrire la molécule de choix, et de penser à des alternatives aux antibiotiques.

Mots clés : colibacillose, poulets de chair, *E. coli*, antibiotiques, multirésistance.

Abstract

Avian colibacillosis is both a serious disease (the symptoms it causes can lead to the death of a large number of animals or their elimination after slaughter following carcass seizures) and major disease (often cited as the most common disease in broiler poultry).

It is the source of major economic losses in poultry industry, as a result of slaughterhouse seizures, as well as growth retardation, mortality and antibiotic treatment costs.

The objective of this study is to isolate *Escherichia coli* from broilers with lesions of colibacillosis, and evaluating the frequency of antimicrobial resistance strains 12 molecules of antibiotics and the percentage of multiresistance.

For this, from 40 livers of infected animals, we isolated 30 strains of *E. coli* on MacConkey and Hektoen agar after enrichment on BHIB environment. Then we identified and biochemically on TSI Urea indole medium and using the API system 20 E. Antimicrobial susceptibility was performed according to the disk diffusion method on Muller Hinton agar according NCLLS standards recommended by the WHO.

Our results show high levels for tetracyclines and nalidixic acid with a rate of (100%), ampicillin and enrofloxacin with similar rate (86,66%), triméthoprim / Sulfaméthoxazole with a rate of (83,33%). Des average percentages are found to amoxicillin/ Ac clavulanic, neomycin and Nitrofurane and low frequency resistance to chloramphenicol, Cefotaxime, gentamicin, and colistin.

There is no strain which is not resistant to any antibiotic.

70, 00% of strains are resistant to at least four antibiotics.

There is no strain which is resistant to 12 antibiotics.

These high results can be explained by the abusive and indiscriminate use of antibiotics, without prior recourse to the antibiogram.

In conclusion, it appears from this study that antibiotics are becoming less effective against *E. coli*. It is more than ever necessary to systematize susceptibility testing before each treatment to prescribe the molecule of choice, and think of alternatives to antibiotics.

Key words: colibacillosis, antibiotics, multiresistance, *E. coli*, broilers.

ملخص

داء العصيات القولونية الطيور هو مرض خطير (الأعراض التي يسببها يمكن أن تؤدي إلى موت عدد كبير من الحيوانات او اقصائها و القضاء عليها بعد الذبح) ومرض واسع الانتشار (غالباً ما يشار إليها على أنها أكثر الأمراض شيوعاً في دجاج التسمين).

وهو مصدر لخسائر اقتصادية رئيسية في تربية الدواجن، نتيجة لاقصاءات المجازر، فضلاً عن تاخر النمو و الوفيات وتكاليف المضادات الحيوية.

الهدف من هذه الدراسة هو عزل البكتيريا القولونية « *E. coli* كولبي » من الدجاج اللحم و تقييم مدى حساسية هذه السلالات للمضادات الحيوية المقاومة المتعددة من هذه السلالات ل 12 جزيئات.

لهذا الغرض، تم عزل 30 سلالة القولونية من 40 الكبد من الحيوانات المصابة، على كل من ماككونكي و ايكوتان أجار بعد التخصيب على البيئة BHIB. بعد حضنة 18 ساعة في درجة حرارة مئوية 37 تم استخدام نظام API 20 E. بعد حضنة 18 ساعة في 37 درجة مئوية. تم إجراء اختبار الحساسية وفقاً لطريقة نشر القرص على أجار مولر هينتون حسب المعايير NCLLS التي أوصت بها منظمة الصحة العالمية.

نتائجنا تظهر معدلات مرتفعة لانتزاع سيكلين وحمض الناليديكسيك بمعدل (100%)، الأميسيلين، الانروفلوكساسين (86,66%)، ترميثوبريم-السلفاميثوكسازول بمعدل (83,33%). تم العثور على النسب المئوية متوسطة لأموكسيسيلين / حمض كلا فولنيك، النيوميسينو، نتروفيران، وانخفاض معدل المقاومة للكورامفينيكول، سيفوتاكسيم، جنتاميسين، وكوليسيتين. لا توجد أي سلالة ليست مقاومة لأي مضاد حيوي.

70,00% من سلالات مقاومة لأربع مضادات حيوية على الأقل.

لا توجد أي سلالة مقاومة لاثني عشر مضاداً حيوياً معاً.

في الختام، يبدو من هذه الدراسة أن المضادات الحيوية أصبحت أقل فعالية ضد العصيات القولونية. وهذا يدفع أكثر من اللازم من أي وقت مضى لتنظيم اختبار الحساسية قبل كل علاج، والتفكير في بدائل للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: داء العصيات القولونية، دجاج اللحم، والمضادات الحيوية، المقاومة المتعددة.