

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE**

**PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR
VETERINAIRE**

SOUS LE THEME

Etude sur la colibacillose chez le poulet de chair

PRESENTE PAR :

**Melle. Bouhdadja Meriem
Melle. Bensafi Amina Ikram**

ENCADRE PAR :

Dr. Merati Rachid



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*A ALLAH LE TOUT PUISSANT, LE TOUT
MISERICORDIEUX*

*C'est lui, ALLAH. Nulle divinité autre que lui,
le connaisseur de l'invisible tout comme du
visible, le Souverain, Le pur, L'Apaisant, Le
Rassurant, Le Prédominant, Le Tout Puissant.
A Lui les plus beaux
noms. A ALLAH appartiennent les cieux et la
terre.*

*Que la Grâce d'ALLAH et Sa Lumière ne
cessent de se répandre sur l'âme de Son
messager et prophète : Mohamed (PSL).*





Remerciements

A notre promoteur

Monsieur Merati Rachid pour sa bienveillance, sa générosité et leur grand effort qui nous a permis de réaliser ce travail

Nous exprimons notre profond reconnaissance et respect .

A L'équipe de laboratoire d'hygiène et pathologie animal de l'institut vétérinaire de Tiaret qui nous facilitons la réalisation des analyses.

Merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dedícace

Je dédie ce travail...

MA CHÈRE MÈRE : Pour l'assistance, le soutien et la confiance que vous m'avez toujours témoigné.

Pour la mémoire de mon père : Que la mort a ravi trop tôt à mon affection et que je serais si heureux d'avoir à mes côtés en cette circonstance.

Puisse Dieu lui accorder le repos et la paix éternelle.

Ma sœur Nassima : Qui par son courage et sa générosité m'a toujours aidé et soutenu.

Qu'elle accepte ce travail comme témoignage de ma reconnaissance et mon affection.

A mon frère Mohamed et sa femme Meriem

A ma nièce Aya que je l'aime très fort

A tout mes amis

mes chères :

Kamel : qui m'a soutenue pendant toute cette période qu'il accepte ce travail comme témoin de mon affection et ma reconnaissance

Meriem : ma binôme et mon merveilleuse amie qui je regrette jamais sa connaissance

Bensafi Amina Ikram

Dedicace

Je dédie ce travail...

Mes chères parent : en témoignage de mon amour et ma reconnaissance des sacrifices qu'ils m'ont consentis Ses encouragements tout au long de mes études m'ont apporté lamotivation nécessaire a la réussite

Mes sœur : Fatima, Fadila, Karima, Rima, Nesrine, Siham, Zouzou, Houria, Petite, Assia Lilia ,Khadidja

MES TENTE Touha ,Farida , Assia, Rachida

Mon frère : Ahmed et sa femme zissawia ,Bichou et Didou hakim amine et hamou

Mes chères amis : Imen et Amira, Lidya ,Kamel , Rachad, Mohamed Zakaria .

IKRAM : ma binôme et ma chère amie

Atouts les membres des familles Bouhedadja et Turki

BouhedadjaMeriem

Résumé

Résumé

La colibacillose est une pathologie très importante en aviculture notamment en poulet de chair où elle entraîne de grandes pertes économiques, l'étude a été réalisée afin d'établir une incidence de la maladie dans les élevages de poulets de chair au niveau de la région de Tiaret et ainsi mettre en évidence les différentes résistances envers différentes familles d'antibiotiques, un total de 144 échantillons représentant foie, rate et intestin prélevés à partir de 48 poulets collectés de différents bâtiments d'élevages dans la région de Tiaret ont été analysés, 79 souches d'E coli ont été isolées, une sélection de 44 souches isolées à partir du foie a été utilisée pour établir un antibiogramme, suite à l'étude on a constaté que la colibacillose est très répandue dans les élevages de poulets de chair au niveau de la région de Tiaret, et que toutes les souches isolées ont été résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques.

SOMMAIRE

Synthèse bibliographique

Introduction.....	01
Chapitre I : LA COLIBACILLOSE AVIAIRE	
1. Définition	02
2 .Historique.....	02
3. Espèces affectées.....	02
4. IMPORTANCE.....	02
5.Répartition géographique.....	02
6.Etiologie.....	02
6.1. Bactérie responsable.....	02
6.1.1.1.Morphologie.....	03
6.1.1.2.Structure.....	03
6.1.2. Caractères biochimiques et classification.....	03
6.1.2.1. Caractères biochimiques.....	03
6.1.2.2.Classification.....	04
6.1.3.Caractères culturels.....	04
6.1.4. pouvoir pathogène.....	05
6.1.5. Pouvoir antigène	05
6.1.6. pouvoir immunogène.....	05
6.1.7. Résistance de la bactérie aux antibiotiques.....	06
7. Epidémiologie.....	06
8. Pathogénie.....	07
9. Etude clinique	08
9.1. Incubation.....	08
9.2. Symptômes et lésions	08
9.2.1. Symptômes généraux.....	08
9.2.2. Symptômes locaux et lésions macroscopiques.....	08
9.2.3. Lésions microscopiques.....	11
10. Evolution.....	11
11. Diagnostic	12
11.1. Diagnostic sur le terrain.....	12
11.2. Diagnostic bactériologique.....	12
11.3. Diagnostic histologique.....	12

12. Méthodes de lutte.....	12
12 .1. Prophylaxie	13
12.1.1. Prophylaxie sanitaires.....	13
12 .1.2. Prophylaxie médicale.....	13
12 .2 . Traitement	13
12.2.1. Antibiogramme et antibiothérapie	13
12.2 .2 .Traitement adjuvant.....	13

Chapitre II :ANTIBIOTIQUE ET ANTIBIORESISTANCE

1 . Usage des antibiotiques en espèce aviaire.....	14
2. Antibiorésistance ou Résistance bactérienne aux antibiotique	15
2.1. Définition.....	15
2.2. Type de résistance.....	15
2.3.1 Inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	15
2 .3.2. Résistance par diminution de la perméabilité.....	16
2.3.3. Résistance par modification de la cible.....	16
2.3.4. Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux.....	16
2.4. Support génétique de la résistance.....	18
2 .4.1. Résistances mutationnelles ou mutations chromosomiques.....	18
2 .4.2. Résistances extra-chromosomiques.....	18
2.5. Transfert de matériel génétique (diffusion de la résistance chez les bactéries).....	19
2.5.1. Transformation.....	19
2.5.3. Conjugaison.....	20
2.6. Phénotypes de résistance des entérobactéries aux quinolones.....	20
2.7. Biologie moléculaire et détection de la résistance aux antibiotiques.....	21
2.8. impact de la résistance aux antibiotiques.....	22

Eude experimentale

Matériels et méthodes

I . Animaux.....	23
II . Matériels.....	23
III . Méthodes.....	24
1 .Autpsie.....	24
2 . Bactérioscopie : coloration de Gram.....	25
3 . Catalase.....	26
4 . Oxydase.....	26
5 . test sur TSI.....	27

6. Test de l'uréase.....	27
7. test de l'indole.....	28
8. Test de la B-galactosidase.....	28
9. Test de citrate	28
10 . Antibiogramme.....	28
Résultats et discussions.....	31
Conclusion.....	39
Recommandations.....	40
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1 : principaux antibiotique utilisée en aviculture

Tableau2 : principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques

Tableau 3 : matériels utilisés

Tableau 4 : antibiotiques utilisé dans l'antibiogramme

Tableau 5 : Répartition des lésions

Tableau 6 : répartition des taux d'antibiorésistance des isolats d'E. coli

Tableau 7 : pourcentage de multirésistantes des souches aux antibiotiques

Liste des abréviations

Liste des abréviations

- ADN** : Acide désoxyribonucléique
Ag : antigène
AMP : ampicilline
APEC : avian pathogenic Escherichia coli
ATB : antibiotique
C : composant du complément
CN : gentamycine
CT : colistine
DAEC : Escherichia coli à adhésion diffuse
E : érythromycine
EaggEC AAC : Escherichia coli entéroagrégatifs
E, coli : Escherichia coli
EHEC : Escherichia coli entéro-hémorragiques
EIEC : Escherichia coli entéroinvasifs
ENR : enrofloxacin
EPEC : Escherichia coli entéro-pathogènes
ETEC : Escherichia coli entérotoxinogènes
FOX : cefoxitine
H : antigène flagellaire
K : antigène capsulaire
LDC : lysine décarboxylase
NA : acide nalidixique
NCCLS : national committee for clinical laboratory standards, 1999
O : antigènes de la paroi « somatique »
ODC : ornithine Décarboxylase
OFX : ofloxacin
O.N.P.G : orth-nitro phényl galactoside
OX : oxacilline
P : pénicilline G
PCR : polyméraseChainréaction
Ph : potentiel d'hydrogène
Spp : sous espèce
TDA : tryptophane désaminase
TE : tétracycline
Tsh : hémagglutinine sensible à la température
UPEC : Escherichia coli uropathogènes
+ : positif
- : négatif

LISTES DES FIGURES

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : structure de la membrane des bactéries à Gram négatif

Figure2 : Morphologie des Escherichia coli au microscope optique

Figure 3: pathogénie de la colibacillose aviaire

Figure 4 : infection colibacillaire de la grappe ovarienne accompagnée d'une salpingite (aspect cuit des ovules)

figure : 5 et 6: Lésion de colibacilloses aviaires : dépôt de fibrine dans les organes abdominaux.

Figure 07 : hépatomégalie et péricardite fibrineuse

Figure 8 : protocole d'isolement et d'identification (institut pasteur Algérie)

Figure 9 : disque d'oxydase

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

Figure 11 : hypertrophie avec dépôt de fibrine de la rate due à la colibacillose

Figure 12 : colonies d'E. coli sur gélose MackConkey après incubation de 24h

Figure1 3 : antibiogramme après incubation

Liste des annexes

Liste des annexes

Annexe I : composition des milieux utilisés.

Annexe II : tableau de lecture des valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition pour les entérobactéries.

Introduction

Introduction :

La colibacillose aviaire est une pathologie dominante dans les problèmes respiratoires des volailles en élevage industriel. C'est une maladie infectieuse, contagieuse, inoculable dans certaines conditions, due le plus souvent à des souches de sérotypes O1K1, O2K1 et O78K80 réputés hautement pathogènes (**Gross et al., 1991, Mogenet et al.,1997, chanteloup et al.,1991, charles et al., 1994, cloud et al., 1986**).

cette affection a point de départ respiratoire est secondaire a une infection viral ou mycoplasmique . elle se traduit cliniquement par des lésions fibrineuses des séreuses (pericardite,peri hépatite et conduit par la suite a une septicémie entraînant la mort de l'animal). Ces dernières années l'incidence de la maladie s'est notablement accrue, cette augmentation est imputable au développement des méthodes d'élevage intensif dans tous les secteurs de l'aviculture, la colibacillose aviaire est une maladie fréquente économiquement importante en élevage industriel de volailles et une des principales causes de la mortalité chez les poulets et les dindes et la cause signifiante des pertes économiques dans l'élevage industriel des volailles et représente une importante cause de saisie à l'abattoir (**El Fadil et al.,1996**). Elle est souvent considérée comme une infection secondaire (**Nakamura et al.,1992**)à l'exception de l'infection de la membrane vitelline, elle est responsable de pertes économiques majeures dans les élevages avicoles.

Les pertes dues à la colibacillose sont si importantes que l'on doit s'attacher à trouver un traitement ou une prophylaxie efficace (**chanteloup et al.,1991**).

Son importance économique est considérable. Les pertes dues à la colisepticémie correspondent aux mortalités observées aux contre-performances économiques des lots infectés aux troubles de la reproduction, chute de l'éclosabilité, augmentation de la mortalité en coquille ou pendant les premiers jours (**Mogenet et al.,1997**). La sensibilité des volailles est maximale d'une part, et d'autre part à l'âge de deux à trois semaines ou la maladie n'a souvent qu'une faible incidence, et d'autre part vers l'âge de six à neuf semaines où les conséquences sont beaucoup plus importantes.

Suite aux différents problèmes rencontrés dans les élevages avicoles de poulet de chair au niveau de la région de Tiaret , notre étude a été consacrée a la réalisation d'une incidence de la colibacillose par mettre en évidence l'agent causale, et ainsi la réalisation d' antibiogramme sur les souches isolées afin de décelé les différentes résistances envers plusieurs familles d'antibiotiques .

CHAPITRE I: La colibacillose aviaire

1/-Définition :

La colibacillose aviaire est due à des souches d'*Escherichia coli* qui affecte les oiseaux domestiques et sauvages. Elles sont sans doute les infections bactériennes les plus fréquentes et les plus importantes en pathologie aviaire. Les *Escherichia coli* sont des hôtes commensaux du tractus digestif de la volaille et la plupart des souches ne sont pas pathogènes. Cependant, un certain nombre d'entre elles appelées « avian pathogenic *E. coli* » ou APEC et appartenant à des sérotypes particuliers sont associées aux colibacilloses dont les manifestations cliniques et les lésions peuvent être variables suivant l'âge de l'animal et le sérotype (**STORDEUR et MAINIL, 2002**). Elles peuvent entraîner de la mortalité, des baisses de performances et des saisies à l'abattoir. Contrairement aux infections des mammifères, les colibacilloses aviaires prennent des formes générales avec une voie d'entrée respiratoire ou générale. La plupart des colibacilloses sont des surinfections, à la suite d'infections virales ou bactériennes, notamment les mycoplasmes respiratoires.

2 /-Historique :

Escherichia coli ou « colibacille » est une bactérie intestinale des mammifères très commune chez l'homme. Découverte en 1885 par Théodore Escherich, c'est un coliforme fécal généralement commensal, non pathogène, vivant sur la peau et les muqueuses sans nuire à l'hôte qui l'héberge. Plus de 95% des souches d'*E. coli* ne sont pas dangereuses et nous en avons besoin pour vivre.

Théodore Escherich, en observant la fréquence des diarrhées chez l'homme, avait déjà posé la question de l'implication du colibacille dans les entérites. Après la seconde guerre mondiale, les connaissances ont convergé pour établir le concept de virulence de certaines souches d'*E. coli*.

Dans les années 1950, de nombreuses souches d'*E. coli* ont été incriminées en tant qu'agent étiologique de diarrhées infantiles chez l'homme et diarrhées, gastro-entérites ; infections urinaires, méningite, septicémies etc., chez l'animal. (**CHAHED, 2007**)

3/Espèces affectées :

Toutes les mammifères volailles (poules, dindes, canard) et les poissons sont sensibles aux colibacilloses.

4/IMPORTANCE :

L'importance économique est due à la mortalité observée, aux contre performances des lots infectés ; aux troubles divers de la reproduction (chute de l'éclosabilité, retard de croissance ; augmentation de la mortalité en coquille ou mortalité des poussins les premiers jours), et les coûts de la prévention. On note une perte annuelle de 6 millions d'euros en Angleterre due à l'impact des colibacilloses (**STORDEUR et MAINIL, 2002**)

L'importance hygiénique n'est pas négligeable, car certains pathotypes d'*E. coli* susceptibles d'infecter l'homme peuvent être véhiculés par les volailles (**BOISSIEU et GUERIN, 2008**).

5 / Répartition géographique :

Les colibacilloses aviaires sont présentes dans le monde entier.

6 /Étiologie :

6-1/Bactérie responsable :

L'agent étiologique de la colibacillose est la bactérie *Escherichia coli* (*E. coli*). Il s'agit d'une bactérie à Gram-, non sporulée, de la famille des Enterobacteriaceae. Cette bactérie est le plus souvent mobile.

6.1.1.1 /Morphologie :

Sont des bacilles de 2µm de long sur 0.7µm de large. Ils se présentent soit seuls ou groupés le plus souvent par deux (diplobacilles), très rarement ils sont rencontrés en amas. Ils sont mobiles grâce à une ciliature péritriche, mais cette mobilité est très réduite.

Les E. coli sont de forme cylindrique (bâtonnets) ou coccobacillaire. les colonies sont de taille irrégulière, de couleur blanc opaque : l'élévation est bossue, surface brillante ; la consistance est gluante .

6.1.1.2 /Structure :

Le lipopolysaccharide(LPS) est un composant majeur de la surface externe des bactéries à Gram négatif. Le LPS est composé de trois entités synthétisées séparément : le lipide A, le Noyau et l'antigène O, enchâssés dans la membrane externe, représente la partie proximale du LPS, le noyau, sa partie médiane, et l'antigène O, sa partie distale « libre » dans le milieu extérieur (figure1)

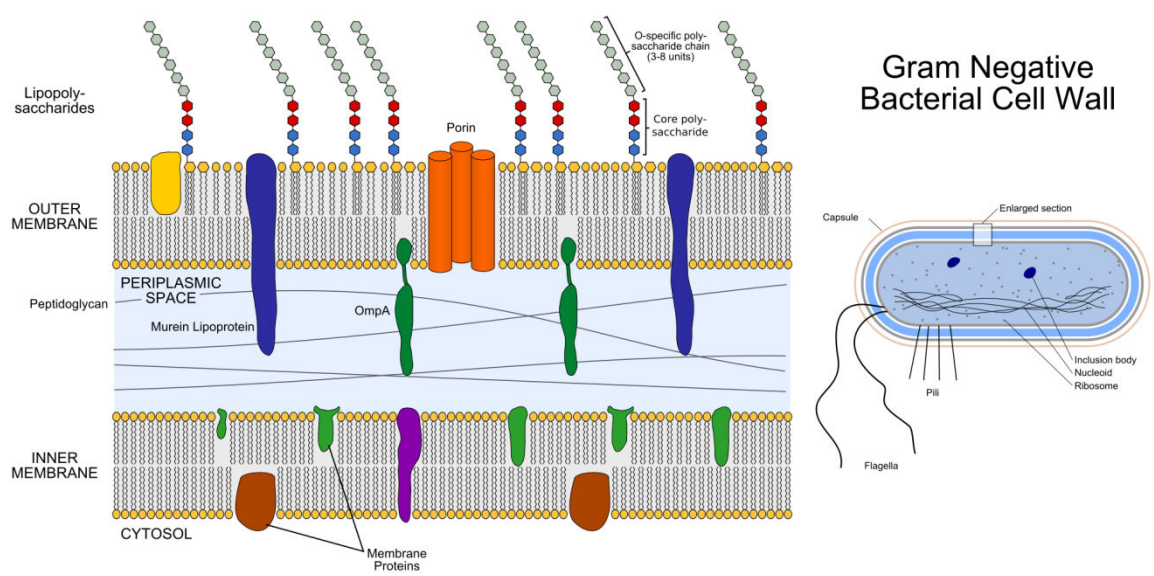


Figure 1 : structure de la membrane des bactéries à Gram négatif (SZALO TAMINIAU et MANIL J ,2006)

6.1.2/. Caractères biochimiques et classification :

6.1.2.1/Caractères biochimiques :

C'est une bactérie de la famille des Enterobactériaceae, possédant comme caractères commun :

- Bacilles à Gram négatif
- Aéro-anaérobie
- Oxydase -
- Pousse en gélose ordinaire
- Glucose +

- Nitrate +

De plus les Escherichia coli possèdent les caractères spécifiques suivants :

- Production d'indole à partir du tryptophane
- Ne possède pas d'uréase
- Ne produit pas d'H₂S
- Incapable d'assimiler le citrate comme seule source de carbone en aérobiose
- TDA-
- Uréase –
- Indole +++
- Vp-
- RM +
- Souvent mobiles (ciliature péripéritrice)

6.1.2.2 /Classification :

Règne : bactérie

Embranchement : proteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Enterobacterales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : Escherichia

6.1.3/Caractères culturels :

Les E. coli se développent rapidement in vitro sur des milieux ordinaires en aérobiose et en anaérobiose la température optimale de croissance est 37°C mais la culture est possible entre 20° et 40°C leur temps de division varie de 20 à 40 minutes. Le pH optimum est de 7.5

Sur la gélose les colonies sont lisses et régulières et atteignent 2 millimètres de large (figure 2)

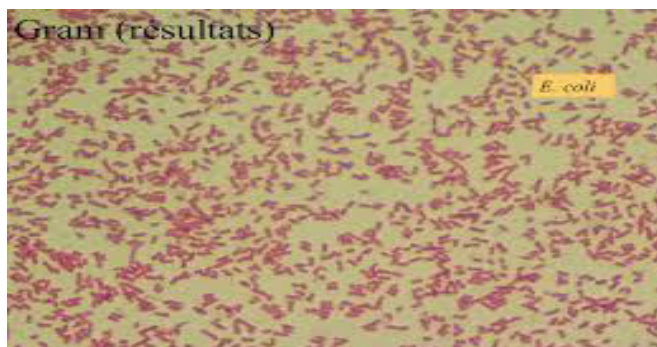


Figure 2 : Morphologie des Escherichia coli au microscope optique

6.1.4/pouvoir pathogène :

L'étude des facteurs de pathogénicité des colibacilles ont montré que dans l'espèce, il existe de nombreuses variantes exprimant des potentialités pathogènes diverses.

Les facteurs de pathogénicité sont (BOISSIEU et GUERIN, 2008) ;

- Une capsule qui s'oppose à la phagocytose
- Des protéines de la membrane externe et le LPS donnant aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément
- Des systèmes de captation du fer par la synthèse de sidérophores eux-mêmes codés par un plasmide et fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication au détriment de la transferrine.
- Des adhésines : Conférant aux souches qui les possèdent la propriété de se fixer aux cellules épithéliales des muqueuses respiratoires et intestinales. L'adhérence constitue une étape essentielle de la pathogénèse des infections dues aux colibacilles
- Des toxines

L'endotoxine comme aux entérobactéries

Les entérotoxines ST (thermostables) et LT (thermolabiles) ce sont des toxines cationiques qui agissent sur le contrôle entérocytaire de la sécrétion hydro-électrolytique la toxine LT est proche de la toxine cholérique.

Les cytotoxines SLT1 et SLT2 (Shiga-like toxin) .ce sont des toxines qui altèrent des érythrocytes.

6.1.5/ Pouvoir antigène :

Il est caractérisée par les antigènes O (somatique) H (flagellaire) et K (capsulaire) qui permettent d'identifier plusieurs sérotypes :

- Quinze (15) sérotypes O sont actuellement recensés chez les volailles
- Plus de cent (100) sérotypes K sont recensés
- Prés de soixante (60) sérotypes H sont recensés

Chez les oiseaux . les combinaisons des antigènes O et K donnent les sérotypes O1 K1 ,O2K1 ,et O78K80 considérés comme les plus dangereux en aviculture.

6.1.6/ pouvoir immunogène :

Escherichia coli possède un pouvoir immunogène faible car les animaux guéris peuvent faire une rechute à l'occasion d'un contact avec les fèces contaminées. il n'y a pas encore de vaccin disponible sur le marché

6.1.7 Résistance de la bactérie aux antibiotiques :

Le genre *Escherichia* est sensible aux antibiotiques tels que les aminocyclitols, polymyxineE, tétracyclines, sulfamidodiaminopyrimidines, s'il y a une utilisation abusive et anarchique de ces derniers pour soigner ou prévenir les maladies, ceci entraîne fréquemment des échecs thérapeutiques.

7/ Epidémiologie :

Les sources de contamination sont les malades, les porteurs sains, la litière souillée, les coquilles des œufs souillés. Le plus important réservoir des *E. coli* aviaire est le tractus digestif de l'animal dont 10 à 15 % de la population colibacillaire appartient à des sérotypes potentiellement pathogènes. Chez le poulet les concentrations sont de l'ordre de 10^6 colibacilles par gramme de matière fécale.

Le mode de transmission de la maladie est le plus souvent horizontal et se fait principalement par inhalation de particules de poussières (litières, déjections) infectées. L'ingestion d'eau contaminée peut aussi être responsable de contamination.

Tous les espaces aviaires sont sensibles à *E. coli* (surtout les poules, dindes et canards). La colibacillose est extrêmement fréquente. Certains facteurs prédisposent les volailles à la maladie telle que le jeune âge, le stress, le taux élevé d'ammoniac, une baisse de la température, des infections concomitantes, ces facteurs favorisent l'apparition des colibacilloses.

Le plus souvent, *E. coli* doit être plutôt considéré comme un agent de surinfection que comme la cause primaire d'une maladie.

Les jeunes oiseaux sont plus sensibles à la forme septicémique. La cellulite est favorisée par des érosions cutanées et par une litière en mauvais état. L'omphalite est induite par la contamination fécale des œufs, par des œufs infectés brisés, par une salpingite ou une ovarite concomitante chez la mère. Les formes génitales se rencontrent chez les futures reproductrices avant l'entrée en ponte ou sur les adultes avec ou sans signe respiratoire. Les formes respiratoires sont surtout rencontrées sur les jeunes, principalement en surinfection.

Escherichia coli est un hôte normal du tractus digestif des volailles ; il est donc disséminé par les fèces des oiseaux malades ou porteurs, ainsi, les oiseaux sont constamment exposés aux germes par des malades ou porteurs, des rongeurs, des insectes, des oiseaux sauvages, l'eau, des poussières, l'environnement. Dès que la résistance d'un oiseau est affaiblie, les souches pathogènes ou non peuvent se développer. *E. coli*, présent dans les intestins, les voies nasales, les sacs aériens ou le tractus génital peut être une source latente d'infection, certaines souches pathogènes peuvent aussi infecter l'oiseau non affaibli.

La contamination se essentiellement par vois aérienne par des aérosols. Les bactéries sont inhalés est contaminer en surface lors du passage dans le cloaque ou dans la litière souillée

8/Pathogénie :

Les colibacilloses surviennent souvent comme des surinfections à la suite d'infections virales ou bactériennes notamment les mycoplasmes respiratoires. Donc les souches d'E coli profitent d'une immunodépression transitoire (maladie de gumboro .maladie de Marek par exemple) pour bien exprimer leur pouvoir pathogène via différentes voies de pénétration (buccale, nasale et cloacale) (figure3) .

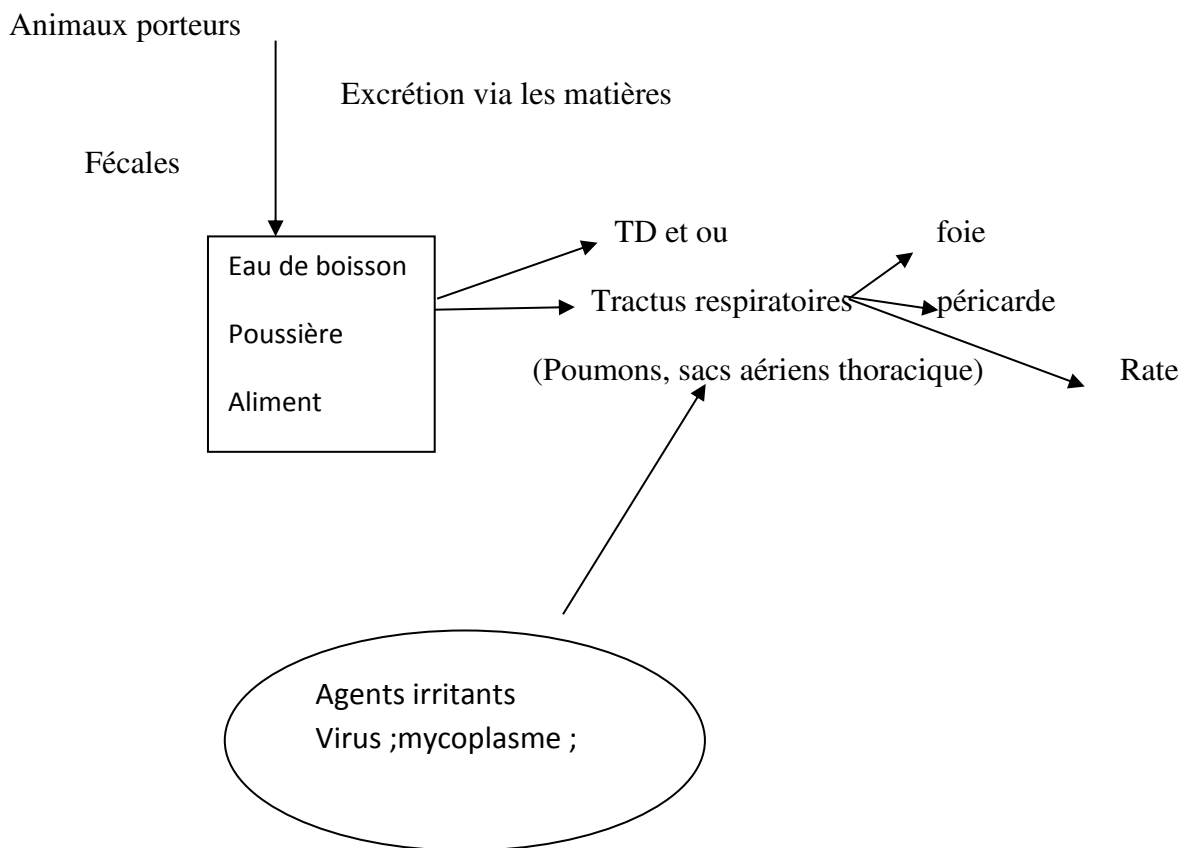


Figure 3: pathogénie de la colibacillose aviaire

Les animaux porteurs excrètent les colibacilles dans la litière, qui contamine par la suite l'eau de boisson, l'aliment et l'environnement du poulailler.

La volaille s'infecte à la suite d'une prise de boisson, de nourriture ou en inhalant la poussière contaminée.

Les viroses et les mycoplasmoses de même que les agents irritants (ammoniac) sont des facteurs qui prédisposent à la colibacillose.

Une fois, la bactérie présente dans le tractus respiratoire (sinus, poumons, sac aérien), elle se multiplie et gagne rapidement le foie, la rate et le cœur via le sang d'où la forme septicémique.

Par ailleurs, d'autres E. coli peuvent passer par voie ascendante à travers le cloaque et infectent l'appareil reproducteur.

9/ .Etude clinique :

9.1/ Incubation :

La période d'incubation est de 1 à 6 jours en moyenne (4 jours) .

9.2/Symptômes et lésions :

9.2.1/Symptômes généraux :

Le premier signe rencontré est une chute importante de la consommation alimentaire. En suite, l'abattement et l'hyperthermie (42 à 44°C) se manifestent, les animaux les plus atteints présentent des signes de détresse respiratoire (bec ouvert, respiration accélérée et irrégulière) et une diarrhée blanchâtre.

9.2.2/Symptômes locaux et lésions macroscopiques :

Les colibacilloses peuvent se manifester par plusieurs formes :

Formes génitales :

Elles se rencontrent chez les futures reproductrices avant l'entrée en ponte (4 à 13 semaines d'âge) ou sur les adultes avec ou sans symptômes respiratoires, il y a un tropisme particulier de certains colibacilles pour l'appareil génital femelle des oiseaux qui traduit par des chutes de ponte survenant en particulier au 2-3^{ème} mois de ponte, des diarrhées blanches. L'autopsie révèle des lésions spectaculaires d'ovarosalpingite (photo 1) associée à une péritonite.

On rencontre parfois, en plus de ces lésions, une ovarite allant jusqu'à la ponte intra-abdominale d'ovules infectés à aspect cuit (figure 04), en omelettes péritonéales nauséabondes sur les femelles en ponte.

On observe aussi un exsudat caséux parfois lamellaire dans l'oviducte, souvent associé à une ponte intra-abdominale.

Le diagnostic de certitude se fera au laboratoire d'analyse vétérinaire par isolement des E. coli sur des prélèvements d'organes lésés.

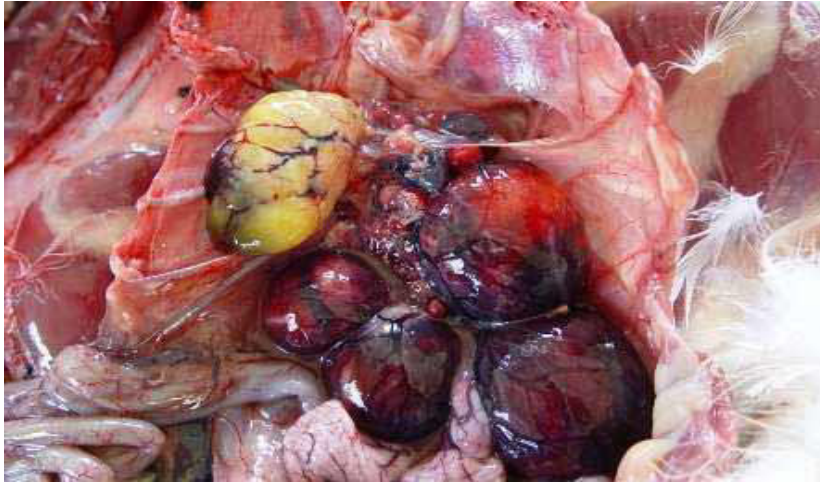


Figure 4 : infection colibacillaire de la grappe ovarienne accompagnée d'une salpingite (aspect cuit des ovules) Source (BOISSIEU et GUERIN ,2008)

Omphalites :

Les omphalites colibacillaire correspondent à des fautes d'hygiène en amont de l'éclosion en éclosier permettant la pénétration des colibacilles dans le sac vitellin (jaune de l'œuf) des poussins nouvellement éclos .la mortalité peut être importante .Les lésions correspondent à l'altération du sac vitellin dont le contenu va du jaune brun au vert et de la consistance aqueuse à grumeleuse. Le diagnostic de certitude se fera par le laboratoire.

Forme systémique aigue ou colisepticémie :

C'est la septicémie par l'invasion colibacillaire chez des poussins de gallinacé. Elle se traduit par des mortalités brutales après abattement et anorexie .il y a souvent des complications associées, comme la colibacillose respiratoire, l'omphalite ou la synovite.

Au niveau lésionnel, on observe des lésions inflammatoires des séreuses viscérales : péricardite,périhépatite et un dépôt de fibrine dans la cavité abdominale et/ou thoracique (figure5 et6)

Le diagnostique de certitude sera fait au laboratoire par ensemencements des milieux de cultures a partir d'organe (du sang du cœur, du foie ou de la rate) de plusieurs animaux.

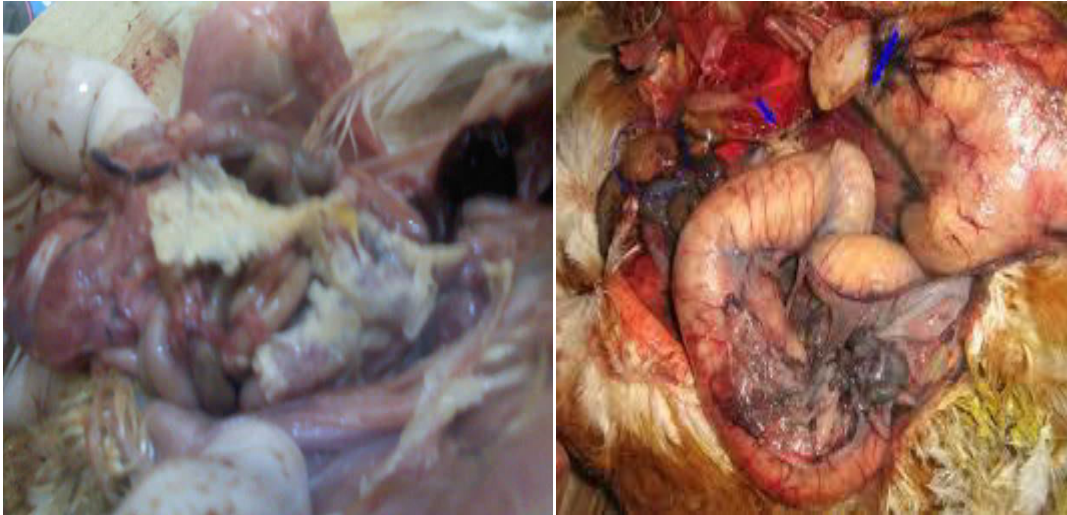


figure :5 et 6: Lésion de colibacilloses aviaires :dépôt de fibrine dans les organes abdominaux.

Forme respiratoire :

Elle représente une dominante pathologique chez les poulets de chair élevés industriellement, elle se présente souvent comme une complication d'une infection mycoplasmique ou virale survenue dans les deux ou trois premières semaines de vie

Les conditions d'ambiance jouent un rôle déterminant dans l'apparition et la gravité du processus.

Les manifestations cliniques sont celles des maladies respiratoires chroniques :

Larmolement, jetage, râles, toux, sinusite ,aerosacculite associée souvent a une perihepatite et une péricardite fibrineuses.(photo5).

Le foie est hypertrophie, de coloration intense avec quelques zones de dégénérescence, parfoisverdâtre.

La rate est hypertrophiée avec des points de nécrose.

Le rein présente une néphrite avec dépôts d'urates parfois.

Au niveau de l'intestin, l'ampoule cloacale est distendue par des gaz et des matières liquides blanchâtres.onnote une légère ascite d'aspect brillant des viscères par le liquide abdominal.

Des lésions inflammatoires multiples sont notées :péricardite ,perihepatite ,aerosacculite ,pneumonie.



Figure 07 : hépatomégalie et péricardite fibrineuse

Formes plus rarement rencontrées :

On peut rencontrer différentes formes avec des atteintes lésionnelles variées :

Méningite, endophtalmite, arthrite, ostéomyélite, tenosynovite.

La maladie de Hjarre (ou coligranulomatose) est une forme particulière qui se manifeste par des nodules blanchâtres dans plusieurs oranges (le long des intestins, dans le mésentère, dans le foie).sauf dans la rate.

Selon une étude réalisée dans les abattoirs anglais, 43% des carcasses saisies pour cause de maladie présentaient des lésions de péricardite de périhépatite et d'aérosacculite typiques de la colibacillose (STRODEUR et MAINIL, 2002).

9.2.3/ Lésions microscopiques :

Les lésions microscopiques consistent en l'apparition d'un œdème suivi d'une infiltration hétérophile . ensuite dans un second temps ,apparaissent les phagocytes qui deviennent majoritaires ainsi suivent des cellules géantes ,une inflammation ,des fibrines ,des granulomes et des débris nécrotiques caséux .

10/ Evolution :

L'évolution peut se faire principalement sous deux formes :

- La forme aiguë ou septicémie colibacillose est dominante en élevage de poulet de chair .elle se manifeste par des mortalités brutales en 2 jours précédant un abattement et une anorexie.
- La forme chronique (colibacillose respiratoire et colibacillose génitale) est dominante est chez les poulettes de 4 à 13 semaines ou les pondeuses adultes. la colibacillose respiratoire est plus ou moins à la colibacillose génitale .le taux de mortalité est de 2 à 3% par mois.

11 /Diagnostic :

11.1/Diagnostic sur le terrain :

Sur le terrain ,on suspectera les colibacilloses chez des volailles présentant une anorexie ,des difficultés respiratoires ,des diarrhées blanchâtres A l'autopsie ,on note une légère ascite avec un aspect brillant des viscères ,une présence de bulles de gaz dans l'intestin .une péri hépatite , une péricardite ,une péritonite ,une ovarite ,une salpingite et un aspect cuit des ovules d'odeur nauséabonde chez les adultes en ponte compte tenu de la non spécificité des signes cliniques de la colibacillose cette affection doit être distinguée d'autres affections

Les diagnostics différentiel se fait avec les pathologies respiratoire et digestives des oiseaux comme la pasteurellose ,la salmonellose ,le coryza infectieux ,les mycoplasmoses .En effet ,l'aérosacculite peut être la conséquences d'une infection à mycoplasme spp ou chlamydia spp la péricardite peut être parfois associés à chlamydia spp et la péri hépatite peut être liée à des infection par salmonella spp .ou pasteurella spp ,les autres manifestation de la colibacillose peuvent aussi avoir des étiologies variées . Parexemple les nodules peuvent résulter parfois désinfections virales (maladie de Marek) ou bactériennes (mycobacterium avium)

C'est pourquoi, le diagnostic de certitude de la colibacillose est essentiellement expérimental.

11.2 /Diagnostic bactériologique :

La culture bactérienne est facile à mettre en œuvre, il faut éviter la contamination fécale lors de la réalisation des prélèvements.

Les pools d'organes (foie cœur rate) ou intestins sont prélevés juste après l'autopsie en respectant les conditions d'asepsie dans des flacons stériles puis congelés. Ainsi à la veille des analyses bactériologiques ces prélèvements sont transférés au réfrigérateur pour éviter le choc thermique des germes. Le protocole consiste à faire l'ensemencement sur Mac Conkey, l'isolement, la coloration de gram et les tests biochimiques, le sérotypage peut renseigner sur le caractère pathogène de l'isolat.

11.3/Diagnostic histologique :

Le diagnostic histologique peut orienter sur les éléments lésionnels histologiques des colibacilloses aviaires A noter que ce diagnostic n'est pas spécifique

12/Méthodes de lutte :

Etant donné le peu de connaissances et l'énorme diversité des souches d'E. Coli aviaire en matière de facteurs de virulence, aucun vaccin n'est disponible à l'heure actuelle pour lutter efficacement contre la colibacillose. En conséquence l'antibiothérapie basée sur un diagnostic

adéquat ainsi que la prophylaxie, restent encore les seuls moyens de lutte contre cette maladie malgré l'incidence croissante des résistances et le risque accru de transfert à l'homme.

12 .1/Prophylaxie :

12.1.1/ Prophylaxie sanitaires :

La prévention sanitaire est fondée sur la maîtrise des facteurs de risque : alimentation et conditions environnementales, qualité de l'eau, plus globalement le respect des règles d'hygiène

12 .1.2/Prophylaxie médicale :

Etant donné le peu de connaissances et l'énorme diversité des souches d'E. Coli aviaire en matière de facteurs de virulence, aucun vaccin n'est disponible à l'heure actuelle pour lutter efficacement contre la colibacillose. En conséquence l'antibiothérapie basée sur un diagnostic adéquat ainsi que la prophylaxie, restent encore les seuls moyens de lutte contre cette maladie.

12 .2 / Traitement :

12.2.1 /Antibiogramme et antibiothérapie :

Un traitement efficace est basé sur une antibiothérapie après réalisation de l'antibiogramme. L'antibiogramme est une méthode visant à déterminer in vitro la sensibilité des E. coli à certains agents chimiothérapeutiques et en particulier les antibiotiques. Ceci est nécessaire du fait des nombreuses antibiorésistances observées sur le terrain. Les molécules les plus utilisées sur le terrain par les cliniciens de la zone d'étude sont : les quinolones de deuxième et troisième génération par voie orale (fluméquine, enrofloxacin, norfloxacin), les bêta-lactamines de synthèse par voie orale, les tétracyclines pures et les aminocyclitols (néomycine). Certains antibiotiques, comme les aminosides, la colistine, les sulfamides, la sepectinomycine ou la framycétine, ne franchissent pas la barrière intestinale, ils sont donc inactifs s'ils sont administrés par voie orale sur les colibacilloses systémiques mais ils peuvent cependant être employés lors des colibacilles pathogènes respiratoires ou intestinaux.

12.2 .2 /Traitement adjuvant :

Le Traitement adjuvant consiste à déparasiter les volailles et à faire une supplémentation en acides aminés (lysine, méthionine, cystine, thréonine), en minéraux (calcium, phosphore assimilable, sodium chlorure) en oligo-éléments (zinc, cuivre, fer, sélénium) et en vitamines (vit A, vit D₃, vit E, thiamine B₁, vit B₆, vit B₁₂) dans l'aliment ou dans l'eau de boisson surtout juste après le traitement anti-infectieux pour diminuer le stress et faciliter la résorption de produit.

La chimioprévention est aussi pratiquée par certains aviculteurs en additionnant des antibiotiques dans l'eau de boisson ou dans l'aliment.

CHAPITRE II:
Antibiotiques et
antibiorésistance

1 Usage des antibiotiques en espèce aviaire ;

La distribution d'antibiotique aux animaux est effectuée sous deux types de statuts :-en tant qu'additif dans un aliment supplémenté, cela pour obtenir un effet facteur de croissance ou en vue d'une prophylaxie anti-coccidienne par exemple :

-en tant que médicament vétérinaire, par la distribution dans un aliment médicamenteux, dans l'eau de boisson ou par administration individuelle, cela dans le cadre d'un traitement préventif ou curatif. Bien que les antibiotiques autorisés en tant qu'additifs aient un pouvoir sélectionnant faible (ils appartiennent à des familles chimique non utilisée en thérapeutique, comme les tétracyclines et les pénicillines, leur emploi est susceptible de sélectionner des bactéries résistantes,

La liste des additifs de la catégorie « antibiotique », autorisée a été considérablement réduite au cours des dernière années du fait de mesure prises pour diminuer leur impact sur les résistance bactériennes,

90% des antibiotique destinés aux animaux seraient incorporés dans l'alimentation, tout usage confondu (facteurs de croissance, préventif, curatif) avec 20% utilisés spécialement chez les volailles **(BORIES et LOIUSOT, 1998)**

Les antibiotique les plus utilisés sont les sulfamides, l'enrofloxacin, la streptomycine, la gentamicine, les tétracyclines et la fluméquine, etc **(LECOANET, 1992 ; HUBERT et al, 1998)**

Tableau 1 : principaux antibiotique utilisée en aviculture (MOGENET et FEDIDA, 1998)

Familles	Exemples
Beta-lactamines	Aminopénicilline : Ampicilline et Amoxyline
	Céphalosporines : Cefotiofur
Aminosides et apparentés	Dihydrostreptomycine (DHS), Gentamycine, Difloxacin etc.
Quinolones	Acide oxolinique, Fluméquine, Enrofloxacin, Difloxacin, etc
Tétracycline	Chlorotétracycline, Oxytétracycline, Doxycycline
Polypeptides	Colistine (polymyxine E)
Macrolides et apparentés	Erythromycine, Josamycine, Lincomycine, Spiramycine, Tylosine, Tilmicosine Tiamoline (pleuromutiline)
Sulfamides	Sulfadiazine, Sulfadimidine, Sulfaméthoxine, Sulfaquinoxaline
Diaminopyrimidines	Triméthoprime

2. Antibiorésistance ou Résistance bactérienne aux antibiotique :

2.1 Définition :

La résistance bactérienne est définie comme la capacité d'une bactérie à survivre à une concentration définie de cette molécule. En pratique, cette résistance se traduit de différentes façons. Pour le bactériologiste, c'est l'acquisition par une bactérie de mécanismes lui permettant de résister à la concentration minimale inhibitrice déterminée pour des souches sensibles. Pour l'épidémiologiste, il s'agit des groupes de souches se distinguant du reste de la population par une concentration minimale inhibitrice plus élevée que la moyenne.

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique lorsqu'elle peut croître en présence d'une concentration plus élevée de cet antibiotique que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce.

2.2 Type de résistance ;

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise. La résistance naturelle est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait, donc, partie du patrimoine génétique normal du genre (YALA et al, 2001)

Elles sont dues soit à une absence de cible pour l'antibiotique soit à une imperméabilité de la paroi à cet antibiotique.

La résistance acquise est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjuguatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (YALA et al. 2001).

L'acquisition de mécanismes de la résistance aux antibiotiques a une expression phénotypique variable. Dans la majorité des cas, elle est détectable par les méthodes habituelles de détermination de la sensibilité aux antibiotiques.

2.3. Mécanismes biochimique de la résistance aux antibiotiques :

En pratique, la pression de sélection et ces différents types de support génétiques permettent à la bactérie d'acquies un mécanisme d'échappement à l'action de l'antibiotique.

Les mécanismes de résistance sont multiples, plus ou moins spécifiques, et correspondent aux modes d'actions des grandes familles d'antibiotiques.

2.3.1 Inactivation enzymatique de l'antibiotique :

Un des mécanismes de résistance les plus répandus et des plus efficaces consiste, pour les bactéries, à modifier la structure même de l'antibiotique de façon à lui faire perdre sa capacité à sa cible cellulaire

Le principal mécanisme de résistance est la production de bêta-lactamases, enzymes qui hydrolysent le cycle bêta-lactame et rendent donc la bactérie résistante à certaines bêta-lactamines.

La bactérie synthétise une bêta-lactamase qui va hydrolyser qui va hydrolyser le cycle bêta-lactame, Son ouverture va empêcher sa reconnaissance par la peptidase et donc la synthèse du peptidoglycane est possible : la multiplication bactérienne n'est alors pas affectée (**JEAN PHILIPPE et al, 2002**).

Les bêta-lactamases responsables de la résistance aux bêta-lactamines à large spectre, habituellement actives contre les bacilles à gram négatif.

Ces enzymes dérivent par mutation, de pénicillinases (TEM .SHV) d'origine plasmidique, Elles sont produites, à l'heure actuelle, par E. coli (moins de 0,1 % en France)

2.3.2 Résistance par diminution de la perméabilité :

Il est intéressant de noter que la modification de la perméabilité membranaire représente un événement important dans la résistance bactérienne aux antibiotiques (**JEAN MARIE et PAGES 2003**);

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 (pénicillines à large spectre, céphalosporines, aminosides, phénicolés, tétracyclines).

Des mutations peuvent entraîner la perte de certaines porines et de ce fait entraver la pénétration de certains antibiotiques. Ces mutations peuvent entraîner la résistance aux plusieurs familles d'antibiotiques simultanément.

2.3.3. Résistance par modification de la cible ;

La modification du site d'action peut être obtenue par inhibition de la liaison de l'antibiotique à sa cible suite à une reprogrammation ou camouflé de cette dernière ou par le remplacement de la cible par une molécule pour laquelle l'antibiotique aura une affinité moindre. Ces molécules, des protéines structurales ou des enzymes produites par les bactéries, altèrent ou se substituent aux protéines qui sont les cibles normales des antibiotiques.

2.3.4. Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux.

Les bactéries peuvent résister aux antibiotiques par exportation active grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux. Ces protéines sont spécifiques d'une classe d'antibiotiques ou au contraire responsables de MDR (multidrug résistance).

Le phénomène a été décrit surtout chez les bactéries à Gram négatif. Chez les bactéries à Gram négatif , le séquençage des génomes entiers des bactéries pathogènes révèle la présence de nombreux gènes candidats encodant des pompes d'efflux est souvent responsable de niveaux modères de résistance , il peut contribuer à des diminutions d'activité des antibiotiques lors de l'association de plusieurs pompes , ou pas synergie avec d'autres mécanismes (VINCENT CATTOIR ,2004)

Les principaux types de résistance, en fonction de la famille d'antibiotiques considérée, sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 2 : principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (SANDERS ,2001)

Antibiotiques	Mécanismes de la résistance (élément bactérien en cause)
Bétalactamines	Modification de la cible (pénicillin Binding Protein) Altération du système d'influx Hydrolyse du cycle bétalactamine Système d'efflux actif
Tétracyclines	Protection du ribosome Altération du système d'influx Inactivation par une enzyme oxygène Tétracycline dépendante Système d'efflux actif
Chloramphénicol	Altération du système d'influx Inactivation par des acétyl-transférases système d'efflux actif
Macrolides ,lincosamides	Activation d'une méthylase modifiant le site d'action ribosomal Mutation modifiant le site d'action ribosomal Système d'efflux actif Dégradation enzymatique de l'antibiotique
Aminoglycosides	Mutation modifiant les sites d'action du ribosome modification enzymatique de l'ARNr 16S Altération du système d'influx Système d'efflux actif
Fluroquinolones	Mutation modifiant les sites d'action sur la topoisomérase Altération du système d'influx Système d'efflux actif
Glycopeptides	Modification de la cible dans la structure de la paroi bactérienne séquestration de l'antibiotique dans la paroi bactérienne
Sulfamides, triméthoprime	Surproduction de la cible de l'antibiotique Modification du métabolisme

2.4 Support génétique de la résistance :

Le siège de la résistance naturelle est le génome bactérien

La résistance acquise est due à une mutation chromosomique ou à une acquisition de gène(résistance extra-chromosomique).

2.4.1 Résistances mutationnelles ou mutations chromosomiques :

Elles sont dues aux mutations de gènes existants .

Elles sont :

Spontanée : elles existent avant l'utilisation d'antibiotique et ne sont donc pas provoquées par la présence d'antibiotique .

-stables : elles se transmettent verticalement dans le clone bactérien .

-spécifiques : elles ne concernent qu'un seul antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques dans ce cas ,la résistance à un antibiotique appartenant à une même famille .

-rares :le taux de mutation est faible et est de l'ordre de 10^{-7} et 10^{-8}

Les résistances chromosomiques sont rares en clinique .

2.4.2 Résistances extra-chromosomiques :

Elles ont pour support un plasmide ou un transposon .Ce mécanisme de résistance est certainement le plus fréquent en clinique (80 à 90 % de souches résistantes)

Elles ont les caractéristiques suivantes :

-elles sont fréquentes : c'est cette forme de résistance qui est la plus souvent rencontrée

Elles sont contagieuses et ont une transmission horizontale entre bactérie cohabitantes de même espèce ou d'espèces différentes

-elles peuvent concerner plusieurs antibiotiques et peuvent entraîner des poly résistances.

Plasmides :

Ce sont des molécules d'ADN bicaténaire ,circulaires extra-chromosomiques ; douées de répllication autonome ,qui sont transmises de façon stable au cours des générations et qui peuvent exister séparément du chromosome bactérien ou y être intégrées .

Une bactérie pathogène est fréquemment résistante aux antibiotiques parce qu'elle contient un plasmide de résistance porteur d'un ou plusieurs gènes de résistance :ce sont des plasmides R (plasmides de résistance)

Chez les bactéries pathogènes d'origine animale , la résistance multiple est principalement plasmidique ,souvent transférable

Le facteur de résistances (souvent à plusieurs déterminants génétiques :

-caractères de résistance (souvent à plusieurs antibiotiques à la fois)

-gènes de transfert d'une bactérie résistante à une bactérie sensible

-d'autres gènes éventuels .

Les plasmides de résistance peuvent conférer la résistance à un ou plusieurs antibiotiques appartenant à des familles différentes .

L'information génétique est portée par des plasmides ,transférables à d'autres bactéries par conjugaison ,transduction ou transformation (YALA et al,2001) .

Transposons :

Les transposons sont des séquences d'ADN capables de promouvoir leur translocation d'un réplicon sur un autre (transposition intermoléculaire) ou en un autre site du même réplicon (transposition intra-moléculaire) en absence d'homologie entre les ADN qui interagissent et indépendamment des fonctions de recombinaison réciproque de la bactérie-hôte .

Le caractère transposable chez la majorité des gènes est responsable de l'apparition des souches multi-résistantes

Intégrons et « gènes cassettes » :

Les intégrons sont de nouveaux éléments génétiques contenant un ou plusieurs gènes de résistance sous forme de cassettes sont des unités mobiles qui peuvent être facilement intégrées dans un intégrons par un mécanisme de recombinaison spécifique de site .

Les intégrons ont surtout été étudiés chez les bactéries à Gram négatif

Les intégrons jouent donc probablement un rôle important dans la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques au sein du monde bactérien(PLOY et al,2005).

2.5 Transfert de matériel génétique (diffusion de la résistance chez les bactéries) :

Chez les bactéries ,les gènes de résistance sont transmis à la descendance (transmission verticale) . ils peuvent aussi être transmis par conjugaison ou transformation ,à d'autres bactéries de la même espèce et plus rarement à des bactéries appartenant à des espèces différentes (transmission horizontale) ce qui réalise une transmission épidémique de la résistance .

2.5.1 Transformation :

Le transfert de matériel génétique fait intervenir ici des virus de bactéries les bactériophages (ou phages) comme les autres virus les phages ne possèdent qu'un seul type d'acide nucléique entouré d'une coque protéique . un phage ne peut se fixer sur une bactérie que si elle possède à sa surface ,un récepteur spécifique d'où l'étroite spécificité d'action des bactériophages .Après s'être fixé ,le phage injecté son acide nucléique (le plus souvent de l'ADN) dans la bactérie .

S'il s'agit d'un phage tempéré ,l'ADN du phage va s'intégrer dans le chromosome bactérien ,en général au niveau d'un site défini ,sous forme de prophage .

2.5.3 Conjugaison :

C'est probablement le mécanisme le plus fréquent dans la nature .C'est un transfert d'ADN entre deux bactérie accolées .le transfert se fait d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice .la bactérie donatrice exprime à sa surface des structures permettent l'accolement (pili sexuels chez les bacilles à Gram négatif ,adhérences chez les Gram positif)

2.6 Phénotypes de résistance des entérobactéries aux quinolones :

L'impact des différents mécanismes de support plasmidique ,qui ne concernent pour l'instant que les entérobactéries ,est encore en pratique clinique ,mais pourrait contribuer ,par le biais d'une sensibilité diminuée ,à la sélection ultérieure de mutants résistants les divers mécanismes de résistance aux quinolones sont :

- Diminution de la concentration intracellulaire d'antibiotique .
- Inactivation de l'antibiotique
- protection de la cible

modifications de le cible suite à la mutation des gènes de structure ,diminuant l'affinité de l'antibiotique pour ca cible.

Classiquement les mécanismes de résistance aux quinolones chez les entérobactéries résultent essentiellement de modifications ponctuelles des cibles les topo-isomérases ,et plus rarement d'une diminution de la concentration intracellulaire de ces antibiotiques par imperméabilité membranaire et/ ou surexpression des systèmes d'efflux (**HOOPER.2001**) .

Les déterminants de ces mécanismes de résistance sont chromosomiques ,c'est –à-dire stables et non transférables ils ne sont pas associés physiquement a des gènes de résistance à d'autres familles d'antibiotiques .

Depuis 1998 ,la découverte de gènes de support plasmatique impliqués dans la résistance aux quinolones chez las entérobactéries a suscité de nombreuses études épidémiologique qui ont mis en évidence leur large diffusion au sein d'éléments génétiques mobiles transférables horizontalement il s'agissait d'un mécanisme de résistance jusque-là inconnu dit « Qnr » ,ce déterminant de résistance est une protéine qui s'intercale entre les topo-isomérases de type II (gyrase) et les quinolones et fluoroquinolones bloquant ainsi tout ou partie deleur activité antibiotique (**TRAN,2005**) .

Enfin ,l'origine des gènes du type qnr ou leur réservoir demeurent inconnus , la sélection par des quinolones et fluoroquinolones en médecine humaine en médecine vétérinaire ou dans l'environnement .En effet plusieurs quinolones et dérivés sont utilisés en médecine vétérinaire et les entérobactérie font parties des rares espèces bactériennes qui s'échangent facilement entre l'homme et l'animal .

2.7 Biologie moléculaire et détection de la résistance aux antibiotiques :

La PCR peut être utilisée pour l'étude de la résistance aux antibiotiques dans trois indications pour interpréter une CMI limite et arbitrer en catégorie sensible ou résistant pour détecter un gène de résistance directement à partir d'un prélèvement pour étudier la dissémination de gènes de résistance dans un but épidémiologique (**BEBEAR et al ,1998**).

La PCR déjà bien connue a été largement décrite dans de nombreux articles . cette technique est basée sur l'utilisation d'une enzyme thermorésistante ,l'ADN polymérase (la plus connue étant la Taq ADN polymérase) qui recopie en de nombreux exemplaire l'ADN cible à l'aide de deux amorces complémentaires respectivement des brins sens et anti sens .

Le processus d'amplification est exponentiel .chaque cycle aboutit à la formation de deux copies par brin (**LAMORIL et al ,2007**)

La PCR est une succession cyclique de trois étapes

- la première étape consiste à dénaturer l'ADN cible par la chaleur
- la deuxième étape correspond a l'hybridation d'amorces complémentaire de séquences encadrant la zone a amplifier .
- au cours de la troisième étapes ,l'élongation des amorces permet de synthétiser un brincomplémentaire de la zone cible .l'amplification est donc exponentielle et permet la fabrication d'une grande quantité d'ADN (**JEAN-LOUIS et al ,2001**)

la PCR a été déclinée de déférentes manières .Nous donnerons quelques exemples sans être exhaustifs :

- la PRC classique :il s'agit de la PRC telle qu'elle a été initialement décrite .après amplification ,la cible est détecté sur un gel d'agarose après addition d'un agent intercalant (BET :bromure d'éthidium) et exposition aux UV.
- La PRC multiplex :plusieurs couples d'amorces sont ajoutés dans un même tube et la PRC multiplex permet donc la mise en évidence de plusieurs cibles dans un seul tube .Elle peut être réalisée de manieée conventionnelle (PRC classique) par PRC –ELISA ou par PRC en temps réel ;
- LA PRC en temps réel : En sus des amorces utilisées pour la PRC proprement dite ,une ou deux sondes (selon la technique utilisée) sont ajoutée au milieu réactionnel .la/les sonde(s) est /sont marquée(s)par un fluorophore permettant la détection directe du produit amplifié (**LAMORIL et al ,2007**).

2.8 impact de la résistance aux antibiotiques :

La résistance des bactéries d'origine animale constitue une menace sérieuse pour la santé publique et pour la santé animale. Cette question soulève de plus de préoccupations avec la présence de souches pathogènes multi-résistances (**ANDREMONT ,2002**) .

Les conséquences immédiates de la résistances aux ATB sur l'élevage sont :

- L'échec thérapeutique entraînant une mortalité accrue lorsqu'un traitement alternatif n'est pas disponible .
- La prolongation de la durée de l'excrétion fécale des bactéries dans les populations animales.
- L'incapacité de lutter contre certaines infections pouvant accroître leur propagation en les rendant plus accessibles pour infecter les humains ou l'environnement (**DEVIE et al ,2006**).

PARTIE
EXPERIMENTAL

PARTIE EXPERIMENTAL

Matériels et méthodes

I. Matériels

1- Échantillonnage :

Notre étude a été réalisée Pendant la période du 25 octobre au 18 décembre 2015, des échantillons ont été prélevés a partir de 48 poulets de chair suspects d'être atteint de la colibacillose âgés de 1 a 8 semaines représentant 26 bâtiments d'élevage. Au cours de l'autopsie, des prélèvements d'organes (foie, rate, et intestin) ont été réalisés pour des examens ultérieurs.

2- Lieu de l'étude :

L'étude a été réalisée au niveau de la région de Tiaret sur 48 sujets d'animaux autopsiés

les prélèvements ont été transportés de manière aseptique vers le laboratoire d'hygiène et Pathologies animal de Tiaret **Université Ibn Khaldoun-Tiaret**.

Tableau N°0 3 : matériels utilisés

appareils	Verreries	Produits de laboratoire	Milieus de culture
-Réfrigérateur -Congélateur -Autoclave -Bec bunsen -Emporte-pièce d'un diamètre de 8mm -Bistouri -Agitateur électrique (vortex) Anse en platine -Etuves -Microscope optique -Spectrophotomètre - Pied a coulisse métallique	-Flacons -Boîtes de pétri -Pipettes pasteurs -Tubes a essai -Eprouvette graduée -Lame et lamelle	-Eau physiologique 0,9% -Fuschine -Huile a immersion -Violet de gentiane -Lugol -Eau oxygénée -Alcool 70° -Réactif kovac's -Disques d'antibiotiques -Disque d'oxydases	-Muller Hinton -Mac Conkey -GN -EMB

II. Méthodes :

1- Autopsie :

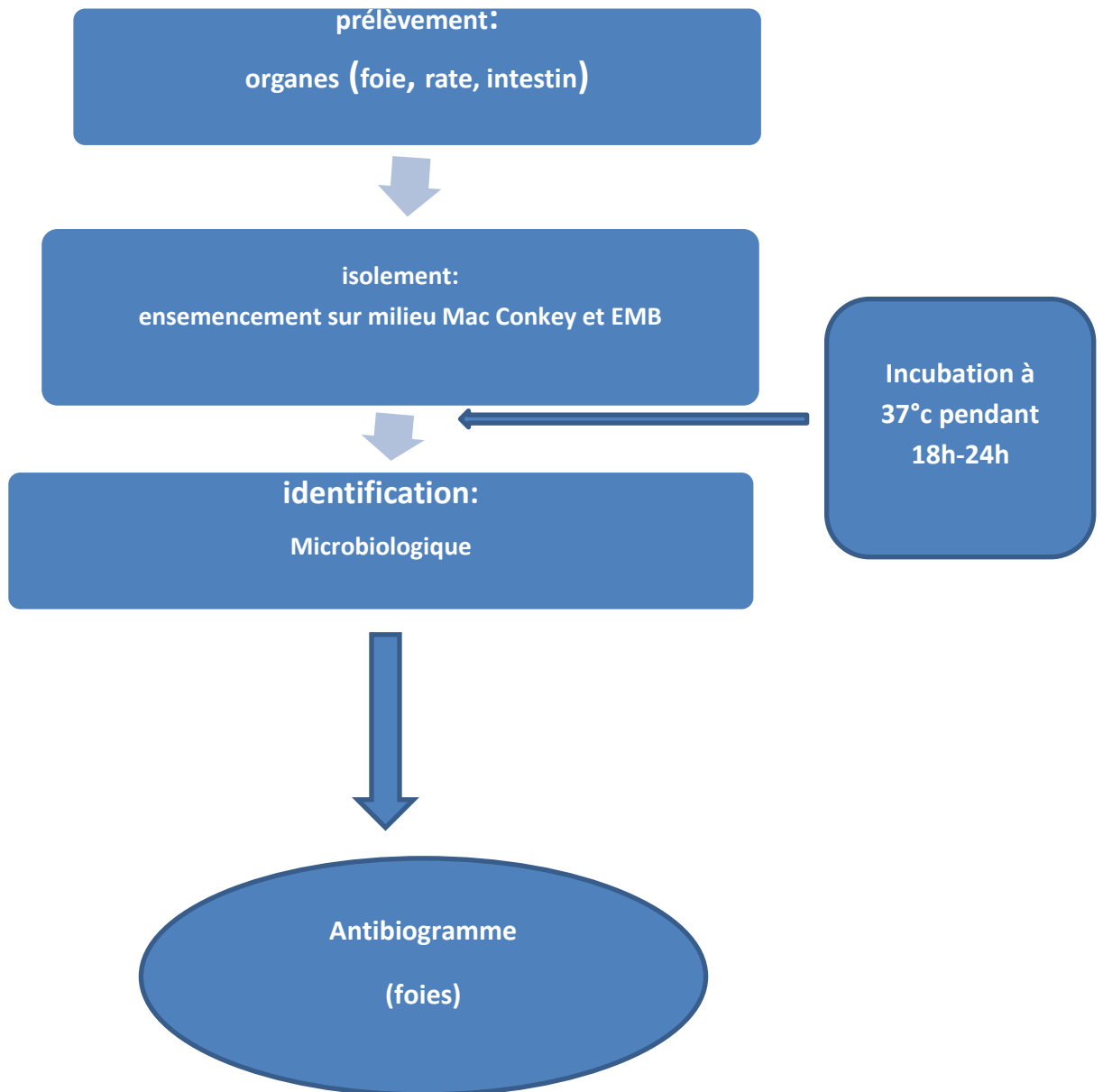
L'autopsie est un temps essentiel au diagnostic en pathologie aviaire : elle nécessite à la fois une connaissance des techniques d'autopsie, de la topographie normale des organes, mais aussi des principales images lésionnelles que l'on peut rencontrer dans la pratique courante.

Technique : le protocole d'autopsie que nous avons suivi au cours de notre travail est résumé dans les étapes suivantes (**GUERIN et BOISSIEU,2007**) :

- 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 de l'appareil génital et urinaire ;
- h. Examen des organes hémato-lymphoïtiques ;
- i. Examen du système nerveux ;
- j. Examen de l'appareil locomoteur .

Premièrement, les organes (foie, rate, intestin) ont été prélevés et disposés dans des boîtes de pétri stériles. Ensuite, la surface de l'organe est flambée puis on introduit un écouvillon qu'on ensemence sur un milieu d'enrichissement McConkey et elles sont acheminées dans un incubateur. Après une incubation de 18 à 24h à 37°C, l'étape suivante concerne l'identification microbiologique qui permet d'orienter l'opérateur vers une classe bien définie de bactéries. Elle met en œuvre les réactions suivantes :

Figure 8 : protocole d'isolement et d'identification (institut pasteur Algérie)



2. Bactérioscopie (coloration de Gram)

La procédé de coloration différentielle de Gram sépare les bactéries en deux classes : Gram négatif et Gram positif. Dans une première étape le frottis est coloré avec le violet de Gentiane (colorant basique) (pendant 1mn), ensuite la préparation est traitée par une solution d'iode "lugol" (pendant 1mn), ce dernier augmente les interactions entre la cellule et le colorant pour que la cellule soit plus fortement contrastée. Le frottis est alors décoloré par l'alcool (pendant 30 seconde), cette étape

PARTIE EXPERIMENTAL

engendre l'aspect différentiel de la coloration de Gram : les bactéries Gram positif gardent le cristal violet tandis que les bactéries Gram négatif les perdent et se décolorent. Enfin le frottis est contre coloré à l'aide d'un colorant basique de couleur différente : la fushine (pendant 50 seconde), colore les bactéries Gram négatif en rose et laisse les bactéries Gram positif colorées en violet foncé.

3. catalase :

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

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

Il s'agit de déposer sur une lame de verre propre ,une goutte d'eau oxygénée H₂O₂, puis mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette pasteur ou une anse plastique à usage unique.

Si formation de bulle, la bactérie possède la catalase.(l'effervescence est due au dégagement de dioxyde). Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme.

4. Oxydase :

La recherche d'oxydase est un test fondamental pour orienter l'identification des bacilles Gram- on utilise comme réactif le chlorhydrate, on l'utilise généralement avec des disque imprégnés de ce réactif (disque oxydase)(figure 9), sur une lame, on place un disque imprégné du réactif et on dépose après une colonie avec une pipette pasteur. S'il y a apparition d'une tache violette au bout de 30 sec, on conclut que la bactérie est oxydase+ et qu'elle possède la cytochrome oxydase. Et s'il n'y a rien qui apparait ça veut dire que la bactérie est oxydase- et qu'elle ne possède pas l'enzyme respiratoire.

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

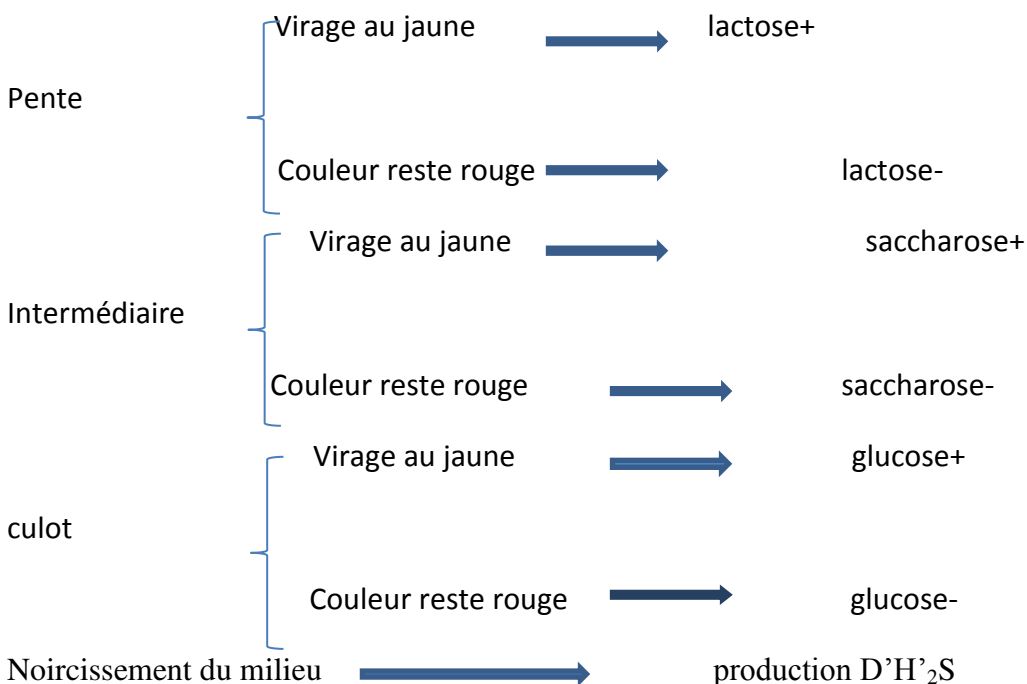


Figure 9 :disque d'oxydase

5. test sur TSI :

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

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



PARTIE EXPERIMENTAL

Formation de bulles \longrightarrow production de gaz

6. Test de l'uréase :

l-uréase est une enzyme responsable de la réaction suivante :



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

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

Milieu devient rouge \longrightarrow réaction positive

Milieu reste jaune \longrightarrow réaction négative

7. test de l'indole :

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

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

Anneau rouge \longrightarrow réaction positive

Anneau jaune \longrightarrow réaction négative

8. Test de la B-galactosidase :

Le but de ce test est d'étudier l'existence d'une galactosidase chez le germe, donc la possibilité de la fermentation effective du lactose, indépendamment de la perméase bactérienne. A l'intérieur de la cellule, l'O.N.P.G (est scindé par la galactosidase en galactose et en 0-nitrophénol de coloration jaune.

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

Coloration jaunâtre du milieu \longrightarrow réaction positive

Milieu ne change pas de couleur \longrightarrow réaction négative

PARTIE EXPERIMENTAL

9. Test de citrate :

Il a pour but de déterminer si une bactérie peut utiliser le citrate comme seule source de carbone.

Le milieu citrate se simmons estensemencé d'une suspension bactérienne, est incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, l'utilisation du citrate se traduit par la libération des ions OH⁻ (négatif) qui alcalinisent le milieu, en faisant virer la couleur verte de bromothymol au bleu.

Coloration bleue du milieu → citrate positif

Coloration reste verte pale → citrate négatif

10. Antibiogramme :

La sensibilité aux différents antibiotiques a été étudiée par la diffusion en gélose Mueller Hinton, selon la méthode de disques sur boîte de pétri stériles, selon les NCCLS.

Les antibiotiques utilisés figurent dans le tableau suivant :

tableau N°04 : antibiotiques utilisé dans l'antibiogramme

Antibiotiques	Familles
AMPICILLINE	BETA-LACTAMINES
PENICILLINE	PENICILLINES
TETRACYCLINE	TETRACYCLINES
OFLOXACINE	QUINOLONES
ACIDE NALIDIXID	
COLISTINE	POLYPEPTIDES
ERYTHROMYCINE	MACROLIDES
GENTAMYCINE	AMINOSIDES
Chloramphénicol	PHENICOLES
vancomycine	glycopeptides



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

➤ **Technique :**

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.

Ensemencement :

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

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

Application des disques d'antibiotiques :

- Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application. Une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé .

Incubation :

- 18 heures à 37°C .
- La durée d'incubation peut être prolonger dans certains cas : oxacilline, glycopeptides et aminosides.

Lecture :

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibiton et des SMI des entérobactéries, genre *Escherichia coli*, figurant dans les tables de lecture (voir annexe II et III).
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

III. Résultats et Discussions

Résultats :

1. Lésions

L'examen nécropsique des poulets à révélé des lésions caractéristiques de la colibacillose : péricardite, périhépatite, aérosacculite, entérite et hypertrophie de la rate. (**annexe I**)



Figure 11 : hypertrophie avec dépôt de fibrine de la rate due à la colibacillose

La répartition des lésions est illustrée dans le tableau suivant :

Tableau N°05 : Répartition des lésions

lésions	Nombre de sujets	Pourcentage(%)
Périhépatite	40	90
aérosacculite	27	61
péricardite	39	88
entérite	32	72
Congestion de la rate	41	93

2. Bactériologie

Dans notre étude 48 sujets provenant de la région de Tiaret ont été autopsiés, 79 souches ont été isolées a partir du foie, rate et intestin, l'antibiogramme a été réalisé sur seulement 44 souches isolées a partir du foie.



Figure 12 : colonies d'E. coli sur gélose MackConkey après incubation de 24h à 37°C. les colonies sont rondes, rose et ont un aspect lisse .

La bactérie est :

gram négatif mobile

catalase négative

oxydase négative

TSI  lactose +

 Saccharose +

 Glucose +

L'uréase négative

Indole positive

B-galactosidase positive

Citrate positive

3. Antibiogramme

Nous avons utilisé une lecture impérative c'est-à-dire qu'on détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec ceux de la souche de référence (E. coli ATCC 25922) . (Annexe II).

- La figure suivante montre les résultats de l'antibiogramme :
- Après incubation de 18h à 37°C, on observe une présence de résistance vis-à-vis la plus part des antibiotique et une sensibilité pour certains d'entre eux (présence de zone d'inhibition).

PARTIE EXPERIMENTAL

Absence de zone d'inhibition zone d'inhibition

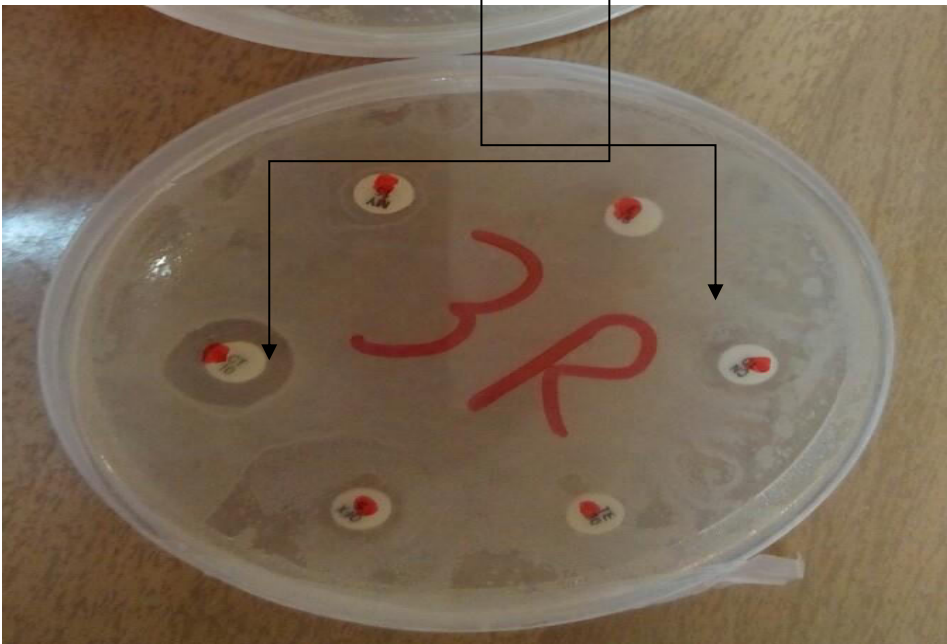


Figure1 3 : antibiogramme après incubation

- La fréquence de résistance pour chaque antibiotique est reporté dans le tableau suivant :

Tableau N°06 : répartition des taux d'antibiorésistance des isolats d'E. coli

antibiotique	sensibilité	S%	résistance	R%	intermediaire	I%
Gentamycine(CN)	0/44	0%	44/44	100%	0/44	0%
Erytromycine(E)	0/44	0%	44/44	100%	0/44	0%
Tétracycline(TE)	0/44	0%	43/44	97%	1/44	3%
Ofloxacine(OFX)	2/44	5%	42/44	95%	0/44	0%
Colistine(CT)	5/44	11%	39/44	89%	0/44	0%
Acide nalidixique(NA)	8/44	18%	36/44	82%	0/44	0%
Pénicilline G (P)	0/44	0%	44/44	100%	0/44	0%
Vancomycine(VA)	0/44	0%	0/44	0%	0/44	0%
Bacitracine (BA)	0/44	0%	42/44	95%	2/44	5%
Chloramphenicole (C)	0/44	0%	42/44	95%	2/44	5%

PARTIE EXPERIMENTAL

Tableau N°07 : pourcentage de multirésistantes des souches aux antibiotiques

Nombre d'antibiotiques	Pourcentage de souches résistantes
1	82%
1	89%
3	95%
1	97%
3	100%

Discussion :

Lésions

- A la lumière du tableau N°05, nous constatons que les lésions rencontrées correspondent à la colibacillose respiratoire et la colisepticémie. C'est la forme la plus commune de la colibacillose aviaire (**selon Dho muolin. Manuel ;Brugere picoux**).
- La porte d'entrée de ces agents pathogènes est le tractus respiratoire ou les mécanismes de défense sont très limités notamment au niveau des sacs aériens d'où l'apparition des aérosacculites (61%). L'altération de la muqueuse respiratoire favorise le passage et la multiplication du germe dans la circulation sanguine, grâce aux différents mécanismes de résistance que possède ce dernier, pour arriver aux organes et provoquer leur altération, ce qui explique la périhépatite (90%), la congestion de la rate (93%), et la péricardite (88%).

Peu de recherche suggèrent qu'E. coli soit la cause des entérites chez la volaille, mais elle ne sont pas suffisantes pour indiquer qu'il s'agit de l'étiologie. L'infection du tractus respiratoire par des sérotypes pathogène d'E. coli est habituellement secondaire à d'autres affections du type coccidiose, entérite nécrotique, parasitisme ou suite à une malnutrition.

- Nous avons remarqué que chez les sujets suspects de colibacillose (en se basant sur les symptômes et les lésions décrits précédemment dans le tableau N°02), nous avons pu isoler ce germe. A partir des lésions uniquement .

A partir des 48 sujets autopsiés, 79 isolats d'E. coli ont été récoltés.

- Sur les 48 poulets autopsiés, 41 présentaient les lésions citées dans le tableau N°01 mais le reste avait pour seuls symptômes un retard de croissance et une mauvaise assimilation.

Cela veut dire que l'agent primaire de l'infection est E. coli et est le seul à intervenir, donc, l'évolution est subclinique et inapparente (**gordon, 1977**).

Résistance

- La fréquence de résistance est très élevée pour les Tétracyclines qui est de l'ordre de 97% ce qui surplombe les résultats obtenus par **FILALI et al (1988)** ou le taux était de 82%, **AMARA et al (1944)** le taux était de 65%, **HAMMOUDI et AGGAD (2008)** 82% et finalement **SALEHI et al (2006)** il était de 94%. Cette grande résistance est due au fait que les tétracycline représentent la plus ancienne molécule utilisée en thérapie engendrant une résistance très élevée.

D'après **COURVALIN et al**, la résistance acquise principalement plasmidique est très fréquente en élevages avicoles suite à un usage abusif des tétracyclines.

Selon **MAYNARD et al**, cette très forte prévalence de la résistance des souches d'E. coli vis-à-vis de la tétracycline est rapportée chez la plupart des espèces d'élevage. Selon **GYLES (2008)**, la

PARTIE EXPERIMENTAL

prévalence des souches résistantes à la tétracycline parmi les APEC dépasse parfois les 80% dans plusieurs études.

- Le taux de résistance aux bêta-lactamine (Pénicilline) sont aussi de 100%. La résistance à la pénicilline est généralement assez élevée, aussi bien parmi les souches d'E. coli aviaires que parmi des souches non aviaires (**GUERRA et al., 2003 ; SMITH et al., 2007 ; BASS et al., 1999**).chez la volaille des variations de prévalence peuvent être assez importantes allant de 5% en Suède, à 71% en Iran (**GYLES, 2008**). L'introduction de nouvelles classes de Bêta-lactames à été rapidement suivie par l'émergence de Bêta-lactamases à large spectre.

- Quant à l'Ofloxacin (quinolone), son taux de résistance est de 95% alors qu'il était de 6% dans l'enquête menée par **HAMMOUDI en 2008**, 23% a été obtenu par **AMARA et al** en 1944 . par contre il est de 76% dans l'étude menée par **SALEHI (2006)**.

Cette augmentation peut s'expliquer par la forte utilisation de ces molécules grâce à leur grande disponibilité sur le marché Algérien (présence de générique) avec des prix très abordables, alors qu'il y a quelques années, il n'existait que la molécule mère qui était très chère.

- Le pourcentage de résistance est en croissance pour la colistine (polypeptides), il est de 89%. Dans des études antérieures, **HAMMOUDI et AGGAD (2008)** est de 3% ; **FILLALI et al (1988)** 0% ; **AHMED AMMARA (2009)** 13%, **BENAMEUR QADA (2001)** 8,69% et **BENAMEUR et al (2013)** 31,57%. Cet accroissement du taux de résistance reflète l'utilisation de cette molécule en élevage avicole dans la région étudiée grâce à sa facilité d'acquisition.
- Au sujet de l'acide nalidixique, nous constatons que le taux de résistance que nous avons obtenu est plus élevé (82%) et différent de celui obtenu par **HAMMOUDI et AGGAD (2008)** 31% ;**HAKIM et HAMMAMI (2010)** 67% ; **BENAMEUR QADA (2011)** 94,78% .

Cette résistance multiple est essentiellement due au fait que les quinolones ont un seul et même mécanisme d'action, par conséquent la résistance acquise vis-à-vis de l'une, confère automatiquement la résistance aux autres antibiotiques de cette famille (Quinolone).d'après **YAMASHITA et al, (2000)**, la résistance aux quinolones est généralement due à des mutations chromosomiques. La résistance croisée avec d'autres antibiotiques (pénicilline, tétracycline) pourrait être due aux mutations qui seront à l'origine d'une réduction de la pénétration des bactéries aux quinolones et du phénomène d'expulsion hors de la cellule bactérienne (**COURVALIN et PHILIPON 1989 ; DUVAL 1989**).

- Les résultats (tableau N°06), nous montrent que 100% des isolats d'E. coli sont résistants pour 3 antibiotiques, 97% sont résistants pour au moins 1 antibiotique, 95% pour au moins 3 antibiotiques, 89% pour au moins 1 antibiotique, et finalement 82% des isolats sont résistants pour 1 antibiotique.

PARTIE EXPERIMENTAL

Ces taux ne sont pas semblables à ceux obtenus par **BENAMEUR QADA (2010)** qui sont de l'ordre de 100 ; 96.56 ; 92.20 ; 89.62 ; 85.31 ; 77.56 ; 48.25 ; 19.81 ; 7.75% respectivement pour 1 ,2,3,4,5,6,7 ,8 et 9 antibiotique.

Des taux plus élevés ont été relevés par l'étude menée par **HAMMOUDI et AGGAD (2008)** qui sont : 92,67,22,et 10% pour 2,3,4 et 5 antibiotiques respectivement.

Cette forte multirésistance est due à l'utilisation anarchique et abusive des antibiotiques dans le secteur avicole sans avoir recours à l'antibiogramme. Elle peut devenir une source de sélection de résistance et joue un rôle dans l'émergence de nouvelles résistances (**SAYLERS and AMQBILE-CUEVAS,1977 ;NOWAK,1994 ; DUTIL et al.2010**). ce qui reflète que l'utilisation de ces produits, à cause de leurs disponibilités sur le marché Algérien en absence de législation réglementant leur utilisation à titre thérapeutique et préventif.

Même si nos résultats sont faibles par rapport à ce qui a été obtenu par d'autres enquêtes : 13% pour au moins 1 antibiotique que celui de **QADA (2010)** qui est de 100% cela ne nous empêche pas de noter que cette forte multirésistance est inquiétante car elle présente un énorme risque pour l'élevage avicole lors des transmissions plasmidiques des résistances (d'une bactérie à une autre) d'où l'échec du taux de morbidité et de mortalité, d'une part.

D'autre part, la contamination de l'homme par ces bactéries multirésistantes (par exemple lors des opérations d'abattage) constituerait l'une des causes majeures des difficultés de traitements rencontrés chez l'homme.

Les résultats restants : 56%,83% pour 2 et 3 antibiotiques sont quasi similaires à ceux obtenus par **BENAMEUR QADA(2010)** 96,51% et 92,20% pour 2 et 3 antibiotiques, **HAMMOUDI et AGGAD (2008)** : 92,67% pour 2 et 3 antibiotiques.

En outre il est difficile d'obtenir une disparition de la résistance, car il reste toujours des traces de résistance et une réintroduction de l'antimicrobien entraîne une récurrence de la résistance qui est parfois assez rapide, aboutissant à une prédominance des souches résistantes (**DUTIL et al., 2010 ; SAYLERS et AMABILE- CUEVAS, 1997 ; NOWAK, 1994**).

A cet effet. Plusieurs antibiotiques sont utilisés communément à titre préventif et curatif sans avoir recours à l'antibiogramme pour choisir la molécule la plus efficace contre la maladie dont il s'agit.

L'usage antimicrobiens comme promoteurs de croissance et dans la prophylaxie sont les deux principales sources de controverse (**JONES and RICKES, 2003 ; CASTANON 2007 ; DUTIL et al ., 2010**). L'effet des antimicrobiens sur la croissance des animaux a été admis aussi bien en Europe qu'en Amérique du Nord (**CASTANON 2007 ; JONES and RICKES , 2003 ; BYWATER 2005**). Son effet sur la croissance est lié à leur interaction avec la flore microbienne intestinale (**DIBNER and RICHARDS, 2005 ;NIEWOLD, 2007**. Le banissement des

PARTIE EXPERIMENTAL

antimicrobiens comme stimulateur de croissance a eu comme conséquence une diminution générale de l'utilisation des antimicrobiens en élevage aviaire mais une augmentation de l'usage thérapeutique antimicrobiens en élevage aviaire mais une augmentation de l'usage thérapeutique (**BYWATER 2005 ;CASTANON 2007 ; MIRANDA et al., 2008**).

Les plasmides, les transposons et les integrons sont les principaux supports génétiques qui expliquent la multirésistance. Les plasmides autotransmissibles sont des éléments génétiques circulaires qui portent des gènes nécessaires pour le transfert de l'ADN par conjugaison, ainsi ils peuvent participer à la mobilisation d'autre éléments génétiques qui prtent des gènes de résistance (**SAYLERS and AMABILE-CUEVAS, 1997 ; CAROTTOLI, 2009 ; CHOPRA and ROBERTS , 2001**).

Les plasmides de résistance aux antibiotiques des E. coli expliquent une grande partie des multirésistances chez E. coli . un nombre très élevé de plasmide codant pour des résistances multiples sont rencontrés chez les antérobactéries, et l'émurgence de nouvelles multirésistances est favorisée par la mobilité des plasmides entre les différentes espèces d'entérobacteries (**CAROTTOLI,2009 ; CHOPRA and ROBERTS, 2001**).*mmk

CONCLUSION

Conclusion

Conclusion

Les résultats obtenus montrent la quasi- totalité des isolats testés sont résistants aux tétracycline (100%) et à la pénicilline (100%) car ce sont des molécules utilisées depuis fort longtemps en thérapie.

Les taux de résistances sont aussi élevés pour l'acide nalidixique avec 84,75% et l'ofloxacine ou il était de 47,45%, ce sont des produits très disponibles sur le marché Algérien et à des prix abordables.

Cette forte résistance pour ces trois antibiotiques (tétracycline, pénicilline, et acide nalidixique) les rend inefficaces dans la lutte contre les colibacillooses.

Avec le faible taux de résistance des isolats à l'ampicilline ; ce produit semble tout à fait indiqué contre la colibacillose.

L'utilisation anarchique des antibiotiques par les aviculteurs sans avis vétérinaire est une pratique qui devient de plus en plus courante, leur permettant d'alléger les pertes causées par de telles infections.

Elle a déterminé la sélection de bactéries résistantes et l'augmentation de la multirésistance : observation de taux alarmant pour l'antibiorésistance individuelle (100% des isolats résistants pour au moins 6 antibiotique) et multiple (56% et 83% des isolats résistants pour au moins 2 et 3 antibiotiques différents respectivement) pour les isolats analysés.

Cette multirésistance est responsable de perte économique considérables (chute de production et productivité) au niveau des élevages avicoles à cause de l'échec du traitement, d'une part et d'autre part, elle présente un énorme risque pour la santé humaine, suite à la transmission des bactéries incriminées vers l'homme (directement ou par les aliments).

La caractérisation moléculaire des mécanismes de résistance aux antibiotiques a mis en évidence l'existence de structures génétiques mobiles qui jouent un rôle très important dans la dissémination des résistances : les plasmides, les interférons et les transposons. Dans ce contexte, il serait intéressant d'initier des recherches portant sur un nombre d'échantillons élevé et représentatif, de faire l'étude sur le plan régional voire national et de pratiquer la méthode de PCR afin de pouvoir identifier les facteurs de virulence et les mécanismes de résistance.

Conclusion

Recommandations

En vue de réduire l'utilisation anarchique des antibiotiques et d'éviter l'émergence des facteurs de virulence, responsable des résistances et de lutter efficacement contre la colibacillose, nous envisageons de suivre ces recommandation :

- Organiser l'utilisation des antibiotiques chez les animaux en rendant leurs prescriptions obligatoires par le vétérinaire.
- Organiser un réseau de surveillance de l'antibiorésistance sur le plan national.
- Sensibilisation des éleveurs sur l'utilisation des antibiotiques sans avis vétérinaire.
- Conseils à l'intention des vétérinaires afin de réduire l'utilisation abusive et erronée des antibiotiques chez les animaux d'élevage.
- Réaliser un antibiogramme avant chaque traitement à base d'antibiotique afin de donner la molécule de choix.
- Appliquer les règles fondamentales d'hygiène : séparation des animaux par classe d'âge, désinfection, nettoyage, vide sanitaire, ventilation...etc.

**REFERENCE ET
BIBLIOGRAPHIE**

REFERENCE ET BIBLIOGRAPHIE

Référence et bibliographie

- 1-AMARA A, ZIANI Z, BOUZOUBAK ; 1995. Antibioresistance of Escherichia coli strains isolated in Morocco from chickens with colibacillosis .Vetmicrobiology. 43, 325-330 .
- 2-BOISSIEU C et GUERIN J.t .2008 AVI compus Ecole vétérinaire Toulouse .les colibacilloses ou infections a Escherichia ligne accès internet :[http /www.avicamp pathologie/colibacilloses.pdf](http://www.avicamp.pathologie/colibacilloses.pdf)(page consultée le 20 Mai 2010).
- 3-BRUGÉRE- PICOUX. J., 1992. Environnement et pathologie aviaire. Manuel de pathologie aviaire. 77-84.
- 4-DEVIE.P.DIVOL .A.GILOBERT.G .Laurent .S.2005 les antibiotiques dans l'alimentation animale.
- 5-DHO-MOUINM, FAIBROTHER JM, 1999.Avian pathogenic Escherichia coli (APEC) .VetRes . 30,299-316.
- 6-FILALI E, Bell JG, El Houadfi M, Huggins MB, Cook JK, 1998. Antibiotic resistance of Escherichia.coli strain isolated from chickens with colisepticemia in Morocco. Comp Immunol microbiol Infect Dis. 11 .
- 7-GORDON. R . F, 1977 .Colibacillosis. Poultry dis. 50- 52.
- 8-GUERIN J. L, Boissieu. C, 2007 . L'autopsie en pathologie aviaire, 1èr partie : protocole d'autopsie et anatomie des volailles. Ecole nationale vétérinaire de Lyon.
- 9-HAMMOUDI A ,AGGAD H , 2008. Antibioresistance of Escherichia coli .
- 10-LECOANET.J.2009.colibacilloses aviaires. Nantes : ENV.94P
- 11- LEDOUX A.L.2003 . Étude de la transmission d'Escherichia coli chez la volaille .Med .Vêt :Daka :3
- 12-MAINIL.J.2004 Bactériologie générale .
- 13- MAINIL.J.2005.Avian pathogénie Escherichia coli University of Liege .Belgium.
- 14-.MAINIL.J.2003 Facteur de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'Escherichia coli : les adhésives et facteurs de colonisation ann .Méd .Vêt :Dakar :3
- 15-STORDEUR P et MAINIL J 2002 la colibacillrose aviaire Méd. Vêt .146 .11-18.
- 16-STRAINSISOLATED.from.chicken .colibacillosis in western Algeria. Turk. J. Vet .Anim. Sci. 32, 123-126.

LES ANNEXES

Les annexes

Les annexes

Annexe I

Milieu utilisés :

1. Gélose mac conkey :

Composition :

- Gelysate 17g
- Polypeptone 3g
- Lactose 10g
- Sels biliaires 5 g
- Chlorure de soduim 5g
- Gélose 12.5 g
- Rouge neutre 0,04
- Ph 7,4

Milieu pour l'antibiogramme :

Muller Hinton :

Composition :

- Composition de viande 3g
- Hydrolysat acide de caséine 17,5g
- Amidon 1,5 g
- Agar 16g
- Eau distillée 11
- Ph 7,3

Les annexes

Annexe II

Tableau de lecture des valeurs critiques des diamètre des zones d'inhibition pour entérobactéries (Espèce aviaire)

Antibiotiques testés	Famille	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
			Résistant	Intermédiaire	Sensible
Pénicilline	Beta-lactamines pénicillines	6 µg	*	*	*
Ampicilline		10µg	≤13	14-16	≥17
Oxacilline		5µg	<20	*	>20
Cefoxitine	Beta-lactamines céphalosporines	30µg	<15	*	≥22
Tétracycline	Tétracycline	30µg	≤14	15-18	≥19
Ofloxacine	Quinolones	5µg	<22	*	≥22
Acide nalidixique		30µg	<15	*	≥20
Colistine	Polypeptides	50µg	<15	*	≥15
Erythromycine	Macrolides	22,5µg	<19	*	≥22
Gentamycine	Aminosides	15µg	≤12	13-14	≥15