

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة ابن خلدون تيارت

UNIVERSITE IBN KHALDOUN – TIARET

معهد علوم البيطرة

INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES

قسم الصحة الحيوانية

DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE

**Mémoire de fin d'études**

**En vue de l'obtention du diplôme de Master complémentaire**

**Domaine : sciences de nature et de la vie**

**Filière : sciences vétérinaires**

**Présenté par :**

**Laribi fatima**

**Thème :**

**Réalisation d'antibiogramme sur isolement  
d'E.coli aviaire**

**Soutenu publiquement le :**

**Jury :**

**Président : Amirat mokhtar**

**Promoteur : Hammoudi abdelhamid**

**Examineur : Akermi amar**

**Grade :**

**MCA**

**Pr**

**MAA**

**Année universitaire 2019/2020**



# SOMMAIRE

Dédicaces.....	I
Remerciements.....	II
Liste des tableaux.....	III
Liste des figures.....	IV
Liste des abréviations.....	V
Liste des annexes.....	VI

## Synthèse bibliographique

Introduction.....	01
<b><u>Chapitre I : Caractères d'<i>Escherichia coli</i></u></b>	
1. Généralités.....	03
2. <i>Escherichia coli</i> .....	04
2.1. Historique.....	04
2.2. Caractères morphologiques.....	05
2.3. Caractères biochimiques.....	05
2.4. Caractères culturels.....	06
2.5. Caractères antigéniques.....	07
2.6. Classification des souches.....	08
2.6.1. Pathovars responsables d'infections intestinales.....	08
2.6.2. Pathovars à infections extra-intestinales.....	10
2.7. Facteurs de virulence.....	11
2.8. Sérotypes.....	15
2.9. Distribution environnementale.....	15
<b><u>Chapitre II: Infections à <i>Escherichia coli</i></u></b>	
1. Infections à <i>E. coli</i> .....	17
2. Epidémiologie des infections à <i>E. coli</i> .....	17
3. Pathogénie des infections dues aux souches APEC.....	18
4. Diagnostic.....	24

5. Traitement.....	24
6. Prophylaxie.....	25
<b>Chapitre III – Antibiotiques et Antibiorésistances</b>	
1. Antibiotiques.....	27
2. Antibiorésistance .....	29

## ETUDE EXPERIMENTALE

### Matériels et méthodes

I. Animaux.....	39
II. Matériels.....	39
III. Méthodes.....	40
1. Autopsie.....	40
2. Bactérioscopie: Coloration de Gram.....	42
3. Catalase.....	42
4. Oxydase.....	42
5. Identification biochimique.....	43
6. Antibiogramme.....	47
Résultats et discussions.....	51
Conclusion .....	60
Recommandations .....	62
Références bibliographiques .....	63
Annexes	

## Liste des tableaux

Tableau N° 01 : Caractères biochimiques d' <i>E.coli</i> .....	6
Tableau N° 02 : Antibiotiques utilisés en espèce aviaire dans le monde.....	28
Tableau N° 03 : Différents mécanismes de résistance acquise.....	31
Tableau N° 04 : Matériels utilisés.....	39
Tableau N° 05 : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.....	48
Tableau N° 06 : Répartition des lésions.....	51
Tableau N° 07 : Répartition des souches récoltées.....	52
Tableau N° 08: Répartition des taux d'antibiorésistance des isolats d' <i>E. coli</i> .....	54
Tableau N° 09 : Pourcentages de multirésistances des souches aux antibiotiques...	55

## Liste des figures

Figure 1 : Observation microscopique de la ciliature péritriche d' <i>E. coli</i> .....	5
Figure 2 : Mode d'action des antibiotiques.....	27
Figure 3: Représentation schématique de conjugaison plasmidique.....	34
Figure 4 : Protocole d'isolement et d'identification.....	41
Figure 5 : Disques d'oxydase.....	43
Figure 6 : Plaque API 20 E.....	43
Figure 7: Tubes de disques imprégnés d'antibiotiques.....	48
Figure 8: Hypertrophie du cœur et péricardite séro-fibrineux.....	51
Figure 9: Hépatomégalie et splénomégalie.....	51
Figure 10: Colonies d' <i>E. coli</i> sur Hecktoen.....	52
Figure 11: Identification d'une souche <i>E. coli</i> avec la galerie API 20E.....	53
Figure 12: Antibiogramme après incubation de 18 h à 37°C.....	53
Figure 13: Taux d'antibiorésistance des différents antibiotiques.....	55
Figure 14: Pourcentages de multirésistance des souches isolées.....	56

## 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 AAEC : *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: antigène de la paroi "somatique"  
ODC: Ornithine Décarboxylase  
OFX : ofloxacin  
O.N.P.G: Orth-Nitro Phényl Galactoside  
OX: oxacilline  
P: pénicilline  
PCR: Polymerase Chain Reaction  
pH: potentiel d'hydrogène  
Spp: sous espèce

TDA: Tryptophane Désaminase

TE: tétracycline

Tsh : hémagglutinine sensible à la température

UPEC: *Escherichia coli* uropathogènes

+ : positif

- : négatif

## Liste des annexes

Annexe I: Composition des milieux utilisés.

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

Annexe III : Tableau des valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité "Souche *E. coli* ATCC 25922".

Annexe IV: Tableau de lecture de la galerie API 20E.

Annexe V: Logiciel d'identification des germes par la méthode API 20 E V4.1

Annexe VI: Hépatomégalie colibacillaire.

Annexe VII : Colonies *d'E. coli* sur Hecktoen et sur Mac-Conkey.

Annexe VIII : Plaque ou galerie API 20 E

Annexe IX: Profil négatif et profil positif sur la plaque API 20 E

Annexe X: Profil positif *d'E. coli* sur la plaque API 20 E

Annexe XI: Antibiogramme

Annexe XII : Histogramme et pourcentage de résistance aux antibiotiques

Annexe XIII : Histogramme et pourcentage de sensibilité aux antibiotiques



SYNTHÈSE  
BIBLIOGRAPHIQUE

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION :

Les produits d'origine animale et particulièrement avicole occupaient une place très modeste dans la structure de la ration alimentaire de l'Algérien.

Ces vingt dernières années, la production avicole connaît un réel développement grâce aux importants investissements consentis par les secteurs privés et publics suite à l'engouement du consommateur.

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

La colibacillose, une de ces pathologies, qui est considérée comme infection secondaire, représente à l'heure actuelle l'une des plus importantes causes des pertes économiques dans le secteur avicole et constitue l'un des motifs de saisie les plus fréquents à l'abattoir. Elle est due à *Avian Pathogenic Escherichia coli "APEC"* et appartenant à des sérotypes bien particuliers dont les plus pathogènes sont : O1, O2 et O78.

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

Cette situation, a poussé les éleveurs à l'usage abusif et erroné d'antibiotiques dans le but lucratif de satisfaire la demande et de rentabiliser leurs élevages, sans avoir conscience qu'ils participent à l'émergence de bactéries résistantes, voire multirésistantes qui peuvent entraîner des risques sérieux pour la santé humaine.

Au niveau mondial, les familles d'antibiotiques utilisées en élevage sont souvent les plus anciennes, ce sont principalement les tétracyclines, les quinolones, les céphalosporines et les macrolides (NADEAU et al, 1999).

Plusieurs études ont été menées dans différents coins du monde afin de déterminer la fréquence de la résistance des souches *E. coli* aux différentes classes d'antibiotiques utilisés en

espèce aviaire. Les résultats obtenus sont inquiétants et indiquent la présence d'une grande antibiorésistance individuelle et multiple.

L'étude faite par HAMMOUDI et AGGAD en Algérie en 2008, sur 251 souches d'*E. coli* a montré que 98 % de ces souches était résistants pour au moins deux antibiotiques.

Une autre enquête réalisée au Maroc en 1995, sur la résistance des souches d'*E. coli*, a révélé que 82,5 % des isolats était résistants pour au moins deux antibiotiques.

Aux Etats-Unis, ZHAO et al (2005) ont démontré que 80 % des souches *E. coli* était résistants pour deux antibiotiques.

La transmission de cette résistance dans les élevages avicoles (d'un poulet à l'autre ou d'un antibiotique à l'autre) ainsi qu'à l'homme a été prouvé par différents auteurs en Arabie Saoudite et au Maroc (AL-GHAMIDI et al, 1999 et AMARA et al, 1995).

### **Objectifs de l'étude:**

Par manque de données épidémiologiques suffisantes permettant la détermination des résistances aux antibiotiques, nous avons essayé d'obtenir une meilleure connaissance de ces dernières à travers notre étude qui s'est porté sur la région de Tiaret et qui a pour objectif :

1. Isolement de la bactérie « *Escherichia coli* » ;
2. Antibiogramme selon les normes NCCLS.

# Chapitre I :

## Caractères

### *D'Escherichia coli*

## 1. Généralités :

L'aviculture est manifestement le domaine des productions animales qui a homologué en Algérie le développement le plus notable au cours de ces vingt dernières années.

Les produits d'origine avicole commencent à occuper une place très importante dans la structure de la ration alimentaire de l'Algérien (FENARDJI, 1990).

L'évolution de ce secteur qui met en place un circuit avicole moderne et industriel représente un excellent exemple d'un environnement artificiel, créé pour augmenter les productions animales, cet avantage s'accompagne parfois, par un manque de maîtrise dans la conduite de l'élevage, de nombreux inconvénients (facteurs physiques, chimiques et biologiques) (BRUGERE PICOUX, 1992).

Tous les stress occasionnés par la plus ou moins bonne conduite des bandes de volailles provoquent des maladies parfois en cascade, aggravées par le nombre et la promiscuité des individus. Ils agissent en cofacteur permettant l'expression d'une pathologie virale, bactérienne ou parasitaire (LA RAGIONE and WOODWARD, 2002).

Les principaux problèmes sanitaires rencontrés en élevage sont de type infectieux.

Les flores microbiennes des sphères respiratoires et digestives jouent un rôle majeur sur l'état sanitaire des animaux et leurs performances zootechniques.

L'introduction d'animaux d'origines diverses représente un risque important d'implantation de nouvelles souches microbiennes pouvant modifier les équilibres de flores dans un sens négatif, voire ouvrir la voie à des bactéries pathogènes (VILLATE, 2001).

les principales maladies d'origine infectieuse rencontrée en élevage avicole sont : les **salmonelloses (*Salmonella*)**, **pasteurelloses**, **staphylococcies**, **streptococcies**, **mycoplasmes** et **les colibacilloses ou les infections à *E. coli*** dont les plus fréquentes et les plus importantes sont **les colibacilloses ou les infections à *E. coli***.

Elles sont devenues les plus redoutables par les dégâts qu'elles occasionnent. Les pertes économiques sont importantes à savoir mortalités, contre performances et troubles divers de la reproduction : chute de l'éclosabilité, augmentation de la mortalité en coquille ou en boîtes les premiers jours (AMARA et al; 1995).

Durant les années récentes, la colibacillose est devenue une importante maladie particulièrement des poulets de chair âgés entre 6 et 9 semaines et moins fréquemment des jeunes poussins durant la première quinzaine après l'éclosion (BLANCO et al; 1997).

Les *E. coli* aviaires, bien que considérés par beaucoup comme pathogènes secondaires, représentent 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 fréquentes à l'abattoir (STORDEUR et MAINIL.J, 2002).

Ce sont des hôtes commensaux du tractus digestif de la volaille et la plupart des souches ne sont pas pathogènes. Cependant, un certain nombre de celles-ci appelées "Avian Pathogenic *E. coli*" ou APEC et appartenant à des sérotypes bien particuliers sont associées au syndromes de la colibacillose, dont les lésions et les manifestations peuvent être variables suivant l'âge de l'animal (infection de la vésicule vitelline, colisepticémie, maladie respiratoire chronique ou CRD, salpingite, péritonite, affection chronique de la peau "swollen-head disease", ostéomyélite) (GROSS; 1994).

## **2. *E. coli*:**

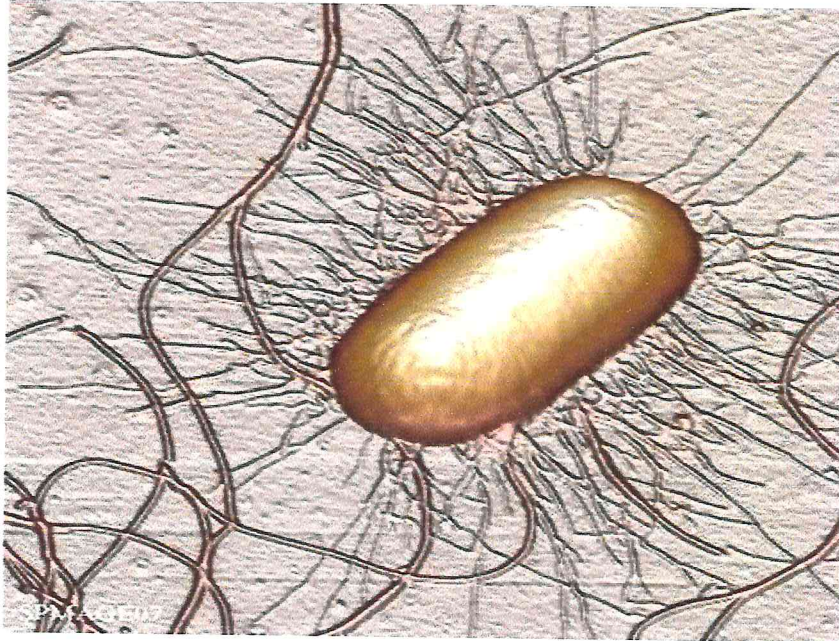
### **2.1. Historique :**

ESCHERICH a isolé en 1885, dans les fèces du nourrisson un germe qui a été appelé *E.coli* . Plusieurs travaux tendent à confirmer le rôle pathogène de cet agent dans les entérites des nouveau-nés, ainsi que dans des troubles divers atteignant de nombreuses espèces animales notamment les volailles qui ont fait l'objet de plusieurs recherches (FEDEE, 1998).

LIGNIERES, en 1894 décrit dans une étude expérimentale chez les volailles une affection de type septicémique, en provoquant la maladie par injection à des poules en intraveineuse des cultures d' *E. coli* (MARTEL, 1997).

MARTEL, en 1897 démontre que l'inoculation du germe dans les muscles pectoraux des poulets provoque des lésions de péricardite, des conjonctivites, des entérites, des omphalites, des granulomatoses et des panophtalmies (QUINN et al; 1994).

## 2.2. Caractères morphologiques :



**Figure 1 :** Observation microscopique de la ciliature pérित्रique d'*E. coli*

*Escherichia coli* est un bacille **gram négatif** de la **famille des Enterobacteriaceae**. *E. coli* est une bactérie Gram négatif (1000 sérotypes) de coloration uniforme de 2-3 microns de long et de 0,6 micron de large, et aux extrémités arrondies, appartenant à la famille des entérobactéries. L'organisme peut être variable en taille et en forme. Les souches sont en général mobiles et possèdent une couronne flagellaire. Il n'y a jamais de spores. Certaines souches sont capsulées et donnent des cultures mucoïdes sur milieu solide. Les *E. Coli* forment des amas entourés de longs cils pérित्रiques (PAYNE, 1988).

## 2.3. Caractères biochimiques :

*Escherichia coli* est caractérisé par la fermentation rapide du lactose (24 à 48 heures), la fermentation du dulcitol et la salicine. Ces caractéristiques ont plus de corrélation avec le sérotype qu'avec la virulence des souches APEC (DHO MOULIN and FAIRBROTHER, 1999).

C'est une bactérie qui ne possède pas de désaminase et fermente le glucose par la voie des acides aminés (rouge de méthyle+), elle donne une réaction négative dans les tests de voges-Proskauer et citrate.



Tableau N° 01: Caractères biochimiques d'*E.coli*

Les caractères positifs (+)	Les caractères négatifs (-)	Les caractères variables (±)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glucose</li> <li>• Lactose</li> <li>• B- galactosidase</li> <li>• Mannitol</li> <li>• Indole</li> <li>• Nitrate</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adonitol</li> <li>• Inositol</li> <li>• Voges proskauer</li> <li>• Citrate de simmons</li> <li>• H<sub>2</sub>S</li> <li>• Uréase</li> <li>• Gélatinase</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Saccharose</li> <li>• Salicine</li> <li>• Dulcitol</li> <li>• Acide phényle propionique</li> <li>• Lysine</li> <li>• Arginine</li> <li>• Acide glutamique</li> </ul>

#### 2.4. Caractères culturaux :

Les *E. coli* se cultivent facilement sur des milieux ordinaires, à une température de 37°C mais la culture est possible entre 20°C et 40°C.

Ils sont aéro-anaérobie facultatif. Leur pH optimum se situe entre 7 et 7,2 mais ils supportent un pH de 5,8 à 8 (voisin de la neutralité), leur temps de division varie entre 20 à 40 minutes (BERCHE, 2002).

Sur gélose simple, les colonies atteignant 2-3 mm sont rondes, lisses, brillantes, à bords bien délimités ou réguliers dans le cas des colonies lisses ou smooths mais il existe aussi des formes rugueuses qui présentent un contour irrégulier, une surface rugueuse.

Sur milieu liquide, elles occasionnent un trouble uniforme du bouillon.

Les cultures se font en principe sur des milieux plus sélectifs qui permettent l'identification et l'isolement des *E. coli*. Ils contiennent des produits inhibiteurs vis-à-vis des bactéries Gram positifs, mais aussi des indicateurs colorés de pH (rouge phénol). Ces milieux facilitent l'isolement de ces bactéries en vue de l'identification (LE MINOR et VERON, 1989).

## 2.5 Caractères antigéniques :

Au sein de chaque genre, on individualise des *espèces*, par l'étude des caractères biochimiques ou antigéniques. Les entérobactéries possèdent tous des antigènes de paroi (somatiques) ou antigènes O.

Les entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle ou antigènes H. Enfin, certains possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène K (MAINIL; 2005).

### a. Antigène O ou antigène somatique:

L'antigène O est l'endotoxine des bactéries à Gram négatif. Il est composé de lipopolysaccharides (LPS) complexes (antigène de la paroi), thermostables. Il en existe près de 160 sérotypes.

Il contient un grand nombre d'unités répétées d'oligosaccharides de 3 à 6 sucres dont la combinaison détermine la diversité d'antigènes O.

On peut identifier ces antigènes par plusieurs techniques dont la plus courante est l'agglutination sur lame avec des sérums spécifiques : la présence d'une agglutination indique qu'il y a correspondance entre le sérum utilisé et un antigène de la souche étudiée (AVRIL et al, 2002).

Au cours des infections systémiques à entérobactéries, il y a lyse bactérienne et libération d'antigène O. En raison de sa toxicité, celui-ci entraîne un certain nombre d'effets physiopathologiques. Etant antigénique, il entraîne aussi la formation d'anticorps spécifiques anti-O qui peuvent être dosés dans certains cas et fournir un moyen *indirect* de faire le diagnostic de la maladie, comme par exemple le sérodiagnostic de WIDAL et FELIX dans le cas des fièvres typhoïde et paratyphoïdes (PRESCOTT et al, 2007).

### b. Antigène H ou antigène flagellaire:

L'antigène H n'est pas toxique. De nature protéique, il ne sert pas à l'identification des *E. coli* pathogènes mais présente un intérêt au point de vue épidémiologique: l'identité de l'antigène H constitue un élément pour assurer qu'il s'agit de la même souche.

La diversité des antigènes H est due aux différents types de flagelline composant la structure du flagelle. Il en existe près de 60 .

On peut les mettre en évidence par agglutination sur lame avec des sérums spécifiques. Au cours des infections systémiques à entérobactéries, il y a formation d'anticorps anti H. Ces anticorps qui ne sont pas neutralisants (c'est-à-dire qui n'ont pas d'effet protecteur) peuvent

être dosés et permettre alors, avec les anticorps anti-O, de faire le sérodiagnostic des infections à entérobactéries (ORSKOV et ORSKOV, 1984).

### c. Antigène K ou antigène capsulaire:

Il existe trois types d'antigènes K désignés par les lettres L, A ou B. il en existe 100.

- l'antigène L est le plus fréquent mais est thermolabile (il est détruit en 1/2h. à 100°C). Donc, le chauffage provoque une perte du pouvoir antigénique, du pouvoir de fixer les agglutinines et du pouvoir de masquer l'antigène O.
- l'antigène A est rare; c'est un antigène capsulaire (les *E. coli* encapsulés sont relativement fréquents dans les infections urinaires). L'antigène A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire).
- L'antigène B est toujours présent chez les *E.coli* entéropathogènes des gastro-entérites infantiles. Il a une thermolabilité intermédiaire: après 1/2 h à 100°C, il reste toujours de l'antigène A mais l'antigène O peut entrer en contact avec le sérum par trouage de l'enveloppe, la fixation de l'agglutinine est toujours positive mais le pouvoir antigénique se perd progressivement (en fonction de la durée de chauffage) (Mainil, 2004).

L'antigène K qui entoure la paroi de certaines entérobactéries peut masquer l'antigène O (AVRIL et al, 2002).

## 2.6. Classification des souches :

### 2.6.1. Pathovars responsables d'infections intestinales :

agents de diarrhées. Les souches pathogènes de *Escherichia coli* sont reconnues comme des agents responsables de syndromes diarrhéiques d'origine alimentaire ou hydrique.

Six principaux pathotypes intestinaux sont décrits en fonction des signes cliniques engendrés et des facteurs de pathogénicité exprimés.

Ce sont:

#### ► *Escherichia coli* entérotoxigènes (ETEC):

Ils sont responsables des diarrhées du voyageur, fréquents dans les pays chauds et humides et seulement rencontrés en France lors de cas importés par des voyageurs venant de ces pays d'où le nom de "turista" donné à ces diarrhées.

Ils sont liés à la présence d'entérotoxines, les unes thermostables (ST), les autres thermolabiles (LT), et d'adhésines permettant aux bactéries d'adhérer aux cellules épithéliales de la muqueuse de l'intestin grêle et de s'y multiplier. Les gènes de ces deux types de facteurs de pathogénicité ont un support plasmidique (PRESCOTT et al, 2007).

► ***Escherichia coli* entéropathogènes (EPEC)**

A l'origine d'entérites épidémiques (antérieurement aussi appelés gastro-entérites infantiles (GEI), et historiquement classés selon leur appartenance à des sérotypes. Ces *E. coli* étaient une cause majeure de diarrhées chez les nourrissons qui sévissaient dans les maternités, les crèches, etc. Ils ont pratiquement disparus dans les pays industrialisés, mais continuent d'être responsables de diarrhées dans les pays en voie de développement. Les EPEC colonisent la muqueuse intestinale en adhérant très fortement aux entérocytes intestinaux, produisent des lésions d'attachement et d'effacement caractérisées par la destruction localisée des micro villosités de la bordure en brosse, et en induisant des altérations au niveau du cytosquelette des cellules épithéliales (ORSKOV et ORSKOV, 1984).

► ***Escherichia coli* entéro-hémorragiques (EHEC)**

*E. coli* entéro-hémorragique est caractérisé par l'Ag O 157 et H7. Provoque des diarrhées hémorragiques pouvant donner un syndrome hémolytique et urémique (insuffisance rénale). Ces souches produisent une toxine particulière qui a une action sur les endothéliums des capillaires et sur les GR (GORDON, 1977).

► ***Escherichia coli* entéroinvasifs (EIEC)**

A l'origine de syndromes dysentériques. Intermédiaires entre les *Escherichia coli* et les *Shigella* dont ils possèdent le pouvoir pathogène, ils provoquent des ulcérations de la muqueuse du gros intestin, d'où la présence de pus et parfois de sang dans les selles et sont caractérisés par le caractère invasif des cellules dû à l'acquisition d'un plasmide (Centres Nationaux de référence des *Escherichia coli*, 1999).

► ***Escherichia coli* entéroagrégatifs (EaggEC AAEC)**

Ce pathotype, reconnu depuis quelques années, est associé plus particulièrement à des diarrhées aqueuses persistantes chez les jeunes enfants dans les pays en développement (Inde, Brésil), ou développés mais aussi à des diarrhées sanglantes occasionnelles. Les souches *EaggEC* se caractérisent par un type d'adhésion agrégative en " briques empilées " à l'origine de nécroses au pôle apical des villosités avec œdème inflammatoire et hémorragique de la sous-muqueuse. Elles élaborent une entérotoxine thermostable (EASTI) et une thermolabile (PRESCOTT et al, 2007).

► ***Escherichia coli* à adhésion diffuse ou DAEC**

Ils ont été récemment associés à des diarrhées aiguës et persistantes chez des enfants dans les pays développés ou en développement. Les diarrhées peuvent être aqueuses et contenir du mucus. La durée moyenne est de 8 jours. Les DAEC adhèrent seulement aux cellules Hep-2 et paraissent uniformément dispersés sur toute la surface des cellules épithéliales en un profil diffus. (Centres Nationaux de référence des *Escherichia coli*, 1999)

## 2.6.2. Pathotype à infections extra intestinales

► ***Escherichia coli* uropathogènes (UPEC)**

Ils sont responsables de la majorité (90 %) des infections survenant sur un arbre urinaire normal : cystites, pyélonéphrites.

Leur pouvoir pathogène est caractérisé par une adhésion aux cellules uro-épithéliales grâce à plusieurs types d'adhésines, et à d'autres facteurs comme l'hémolysine alpha et les sidérophores.

► **Autres *Escherichia coli* pathogènes non responsables de diarrhées**

Les *E. coli* sont responsables de 50 % des septicémies dues à des bactéries à gram négatif et de 4 % des méningites bactériennes touchant principalement les nouveaux nés et les patients de neurochirurgie. Les souches possédant l'antigène K1 sont en cause dans 80 % des méningites néonatales et 40 % des septicémies à *E. coli*. L'antigène K1, homopolymère d'acide sialique, est considéré comme le facteur de pathogénicité le plus important parmi les *E. coli* causant les méningites néonatales. Il a une activité antiphagocytaire importante et présente une communauté antigénique avec le polysaccharide B du méningocoque. Les sidérophores jouent un rôle dans la septicémie.

Les *E. coli* sont également isolés dans des péritonites, cholécystites, prostatites, infections puerpérales, infections nosocomiales, de plaies chirurgicales (Centres nationaux de références, 1999).

#### ► *Escherichia coli* pathogène aviaire (APEC)

Les *E. coli* pathogènes des volailles responsables d'infection extra-intestinales, septicémique ou localisées, dues aux propriétés invasives des souches en causes. Le point départ de ces infections est le plus souvent respiratoire.

Les APEC « avian pathogenic *E. coli* » sont trouvés dans la flore microbienne intestinale des oiseaux sains et la plupart des maladies liées à elles sont secondaires. Les isolats d'APEC appartiennent généralement à certains sérogroupes O1, O2 et O78 (ALLAN et al, 1993).

### 2.7. Facteurs de virulence

Un certain nombre de facteurs de virulence ont été étudiés chez les APEC. Ces facteurs de virulence regroupent les adhésines (fimbriaires ou afimbriaires) impliqués dans l'adhérence des bactéries au tractus respiratoire, la résistance à l'activité bactéricide du complément ou résistance au sérum, nécessaire à la survie des bactéries dans le sang, les systèmes de captation de fer (aérobactine), utiles à la multiplication des bactéries dans le sang; les toxines;(DHO-MOULIN and FAIRBROTHER, 1999) et d'autres propriétés récemment décrites tels que les flagelles, les antigènes capsulaires et l'hémolysine (LA RAGION and WOODWARD, 2002).

#### 2.7.1. Fimbriae de type I

Ce sont de longues protéines filamenteuses de 7nm de diamètre et de 0,1-2 µm de long. Elles sont composées principalement d'un seul polypeptide répété arrangé sous forme d'hélice pour former hollow fibre.

Lis fimbriae de type I sont constitués d'une protéine majeure FimA, associée à d'autres protéines ancillaires (FimF et FimG) et d'une adhésine FimH. Celles-ci sont codées par un ensemble comprenant 9 gènes dont 7 sont présent sur un même opéron (STORDEUR et MAINIL, 2002).

Ces fimbriae ont la capacité de lier le D-mannose et de cette façon de lier plusieurs types de cellules eucaryotes telles que les cellules inflammatoires des intestins, des poumons, des reins et de la vessie. Ils agglutinent les érythrocytes de plusieurs espèces, mais cette agglutination peut être inhibée par l'addition de 3% de D-mannose (LA RAGIONE and WOODWARD, 2002).

In vivo, les fimbriae de type I sont exprimés surtout dans la trachée, les poumons et les sacs aériens. Leur expression ne fut jamais observée dans d'autres organes ni dans le sang.) (DOZOIS et al, 1994).

Leur rôle dans l'infection n'est pas très clair, LA RAGIONE (2002) a démontré qu'ils sont particulièrement importants dans l'adhésion des APEC aux cellules épithéliales in vitro ainsi que dans la colonisation et l'invasion.

D'autres études ont démontré qu'ils ne sont pas nécessaire pour coloniser la trachée et les sacs aériens. Par contre leur perte semble un élément favorable à la colonisation trachéale par les PAEC (ARNE et al, 2000).

### **2.7.2. Fimbriae de type P**

Les fimbriae de type P ou F11 furent d'abord découverts chez des souches d' *E. coli* associées à des infections du tractus urinaire supérieur chez l'homme. On les retrouve occasionnellement dans les isolats urinaires des canins, chez les porcs septicémiques et en minorité chez les APEC (DELICATO et al., 1997)

La présence de ces fimbriae est significativement plus fréquente chez les souches isolées de poulets septicémiques que chez des souches isolées de poulets sains.

Le rôle de cette adhésine n'est pas encore tout à fait élucidé. Elle ne semble pas jouer de rôle majeur dans l'adhésion aux cellules du pharynx et de la trachée, suggérant que le récepteur de cette adhésine n'y est pas présent. En d'autre terme, cette adhésine pourrait jouer un rôle tardif dans le processus de l'infection (colonisation des organes systémiques et occasionner la septicémie) (POURBAKHSI et al., 1997 a).

A l'heure actuelle, les études sur une grande collection de souches isolées de volailles présentant des lésions de colibacillose montrent que, les fimbriae de type P sont retrouvés chez 20 à 25 % de ces souches (DHO-MOULIN and FAIRBROTHER, 1999).

### 2.7.3. Résistance au sérum

La résistance à l'effet bactéricide du complément dans le sérum, médiée par différentes structures bactériennes comme la capsule, le lipopolysaccharide, des protéines de membrane externe, est associée aux souches APEC, surtout celles isolées de lésions de septicémie (GROSS, 1994).

Certaines études ont démontré qu'il existe une corrélation entre la résistance au sérum et le taux de létalité chez des poussins d'un jour. Il a été aussi démontré qu'une corrélation existe entre la résistance au sérum et la virulence des souches inoculées par voie intraveineuse chez des dindes de trois semaines (DHO-MOULIN and FAIRBROTHER, 1999).

### 2.7.4. Aérobactine

La faible quantité de fer disponible dans les liquides physiologiques ne permet pas aux bactéries de pouvoir se multiplier. C'est pourquoi, elles ont acquis un système très efficace de captation du fer leur permettant de survivre en présence de faibles concentrations en fer.

Plusieurs études ont démontré que la plupart des souches APEC (73-89%) possède le système d'acquisition du fer appelé aérobactine, alors que les souches non pathogènes le produisent moins fréquemment. Ce système fonctionne in vivo et son rôle principal serait de permettre aux bactéries de se multiplier dans le sang ou les organes autres que l'intestin (EMERY et al, 1992).

La forte corrélation entre la production de l'aérobactine et la virulence des souches APEC a permis le développement d'un test de diagnostic basé sur la détection immunologique de la protéine IutA qui est le récepteur membranaire du complexe aérobactine-fer. (DHO-MOULIN and FAIRBROTHER, 1999).



### 2.7.5. Toxines

Quelques études ont démontré que les souches APEC sont capables de produire des toxines pouvant être impliquées dans le processus pathogénique.

BLANCO et al (1997) ont reporté que parmi 625 souches d'APEC isolées, seulement 7% était toxigène (BLANCO et al, 1997)

SAVADORI et al (2001) ont montré que les souches APEC produisent une toxine appelée "vacuolating cytotoxin" qui ressemble à celle produite par *Helicobacter pylori*. Elle est décrite chez une trentaine de souches aviaires pathogènes (STRODEUR et MAINIL, 2002).

Des souches APEC et plus particulièrement le sérotype O86:K61, isolée chez des oiseaux sauvages est capable de produire une toxine cytolétale distending (CLDT). (LA RAGIONE and WOODWARD, 2002).

### 2.7.6. Hémagglutination

Provence et CURTISS (1994) ont reporté que l'activité de l'hémagglutinine est exprimée à une température de 26-30°C mais elle est réprimée à une température de 42°C, d'où son nom de "hémagglutinine sensible à la température"(tsh).

Il a été démontré que le gène tsh est présent chez les souches isolées à partir d'animaux malades par contre il est absent chez les souches isolées des fèces d'animaux sains (FERREIRA et al, 2002).

Une étude réalisée sur 300 souches d'APEC provenant de poussin d'un jour montre que parmi les souches possédant le gène Tsh, 90,6% font partie des souches les plus virulentes. Il a été aussi démontré que l'hémagglutinine thermosensible contribue au développement des aérosacculites associées aux *E. coli* chez le poulet (DOZOIS et al, 2000).

### 2.7.8. Antigène capsulaire

La capsule est constituée de polysaccharides, elle est associée aux infections extra intestinales.

La capsule K1 qui est considérée comme un agent important des infections chez l'homme est élaborée par les sérotypes prédominants des souches APEC (GROSS, 1994) Elle est peu

immunogène, elle joue un rôle anti phagocytaire et peut être impliquée dans la résistance au sérum (MAINIL, 2004).

BREE et al (1989) ont démontré que l'antigène K1 est un déterminant virulent des sérotypes aviaires O0:K1.

### 2.7.9. Hémolysine

BLANCO et al (1997) ont reporté que parmi 625 souches APEC testées, seulement 2,6% produisent une entérohémolysine.

### 2.8. Sérotypes

Les premières études menées sur les colibacilles aviaires par Sojka et Carnaghan montrent que les sérogroupes les plus fréquents sont O1, O2, O35 et O78. (SOJKA et CARNAGHAN; 1961 cité par BLANCO et al, 1998). Les dernières études réalisées montrent que les plus présentes et les plus pathogènes sont les sérotypes O1, O2 et O78, représentant de 15 à 61 % des souches isolées bien que d'autres soient aussi présents. Les autres sérotypes représentés de manière significative sont : O8, O15, O18, O35, O88, O109, O115 et O116. Ces résultats ont été confirmés sur une grande collection de souches aviaires isolées d'animaux morts de colibacillose par le biais d'une enquête épidémiologique et par un test de létalité sur poussins d'un jour (BLANCO et al, 1997).

### 2.9 Distribution environnementale :

Le plus important réservoir 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. Chez le poulet, les concentrations sont de l'ordre de  $10^6$  colibacilles par gramme de matière fécale.

Les plus grandes concentrations étant retrouvées chez les animaux de moins de 3 semaines, essentiellement au niveau du tractus digestif postérieur. *E. coli* est aussi un résident normal des voies respiratoires supérieures, notamment du pharynx et de la trachée. Aussi elle est présente sur la peau et les plumes. Il s'agit toujours tant de l'*E. coli* APEC que de l'*E. coli* inoffensif. (DHO-MOULIN and FAIRBROTHER, 1999).

Déjà dans les premières heures après éclosion les oiseaux commencent à développer leur flore *E. coli*. Les germes se multiplient rapidement dans l'intestin. Un grand nombre

d'espèces *E. coli* sont toujours présents, issu de l'environnement d'autres oiseaux, de l'eau et de la nourriture (GROSS, 1994). Sa présence dans les abreuvoirs est considérée comme signe de contamination fécale (FERON, 1992).

Les *E. coli* sont très facilement véhiculées par la poussière qui constitue une source importante de contamination en élevage. Il a été démontré que la poussière des poulaillers contient  $10^5$ - $10^6$  *E. coli* /g (cette bactérie persiste longtemps dans 1 milieu sec et réduite à 84-97% dans 1 milieu humide), et que les sérotypes s'y retrouvant s'avéraient être identiques à ceux retrouvés dans les lésions septicémiques (STORDEUR et MAINIL, 2002).

La transmission par l'œuf des *E. coli* pathogène est souvent responsable de la mortalité levée chez le poussin. La plus importante source d'infection de l'œuf semble être par contamination fécale de la surface avec pénétration ultérieure de la coquille et les membranes. Les bactéries coliformes peuvent se retrouver dans la litière et les matières fécales (VILLATE, 2001).

# Chapitre II:

## Infections dues à *E.coli*

## INFECTIONS DUES A *ESCHERICHIA COLI*

### 1. Infections à *E. coli* :

Les *Escherichia coli* (*E. coli*) sont des hôtes commensaux du tractus digestif de la volaille et la plupart des souches ne sont pas pathogènes. Cependant, un certain nombre de celles-ci appelées « *Avian Pathogenic E. coli* » ou *APEC* et appartenant à des sérotypes bien particuliers, sont associées au syndrome de la colibacillose, dont les lésions et les manifestations peuvent être variables suivant l'âge de l'animal (infection de la vésicule vitelline, colisepticémie, maladie respiratoire chronique ou CRD, salpingite, péritonite, affection chronique de la peau, « swollen-head disease », ostéomyélite) (STORDEUR et MAINIL, 2002).

### 2. Epidémiologie des infections à *E. coli* :

#### 2.1. Etiologie

L'agent étiologique de la colibacillose est la bactérie *Escherichia coli* (*E. coli*).

#### 2.2. Mode de contamination

En pathologie infectieuse aviaire deux types de transmission coexistent : la transmission horizontale entre animaux contemporains sur un même site ou sur des sites différents et la transmission verticale des reproductrices à leur descendance par l'ovule. Il était habituellement considéré que les colibacilles pouvaient se transmettre de la poule au poussin par une voie pseudo-verticale, par la contamination de la coquille de l'œuf, l'embryon se contaminant lors de l'éclosion.

#### 2.3. Distribution

Le plus important réservoir 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. Chez le poulet, les concentrations sont de l'ordre de  $10^6$  colibacilles par gramme de matière fécale. Les plus grandes concentrations étant retrouvées chez les animaux de moins de 3 semaines, essentiellement au niveau du tractus digestif postérieur (GROSS, 1994 ; DHOMOULIN et FAIRBROTHER, 1999).

Les *E. coli* sont très facilement véhiculées par la poussière qui constitue une source importante de contamination en élevage (OYETUNDE et al, 1978). Ainsi, il a été démontré que la poussière présente dans les élevages pouvaient contenir jusqu'à  $10^6$  colibacilles par

gramme et que les sérotypes s'y retrouvant s'avéraient être identiques à ceux retrouvés dans les lésions septicémiques (GROSS, 1994). On peut aussi retrouver ces bactéries dans l'alimentation et l'eau de boisson.

### 3. Pathogénie des infections dues aux souches APEC :

Le pouvoir pathogène de *E coli* repose sur leur capacité à coloniser l'appareil respiratoire, leur résistance au système immunitaire, leur aptitude à se multiplier dans un contexte de carence en fer, et leur pouvoir cytotoxique (VILLATE, 1997).

Comme évoqué plus haut, la voie d'entrée de l'agent pathogène est le tractus respiratoire, via l'inhalation de particules de poussière contaminées par des *E. coli* excrétées du tractus digestif d'animaux sains. Les intestins sont, en effet, le réservoir le plus important des *E coli* pathogènes aviaires ou *APEC*.

Après une première multiplication au niveau du tractus respiratoire supérieur, les bactéries colonisent les voies respiratoires profondes, à savoir, les sacs aériens et les poumons.

Dans une troisième étape, la bactérie atteint le sang et colonise les organes internes comme le cœur, le foie et la rate (JORDAN et PATTISON, 1996).

Les gènes les plus fréquemment identifiés dans les souches isolées lors de colibacilloses sont *Iss*, *Cva C* et *iutA*. Ils sont aussi retrouvés dans le groupe des colibacilles commensaux, mais à une moindre fréquence (ROBINEAU et al, 2010).

#### 3.1. Facteurs de virulence

##### 3.1.1. Adhésines

Les facteurs de virulence regroupent les adhésines (ou fimbriae) impliquées dans l'adhérence des bactéries aux tissus épithéliaux (ROBINEAU et al, 2010).

Les seules études actuelles ont été menées sur les fimbriae de type 1 ou F1 et les fimbriae de type P.

##### 3.1.2. Résistance au sérum ou à la phagocytose

La résistance à l'activité bactéricide du complément ou résistance au sérum (ou *iss* pour increased survival in serum), nécessaire à la survie des bactéries dans le sang (ROBINEAU et al, 2010).

La résistance à l'effet bactéricide du complément dans le sérum, médiée par différentes structures bactériennes comme la capsule, le lipopolysaccharide, des protéines de membrane externe, est associée aux souches *APEC*, surtout celles isolées de lésions de septicémie. Ainsi, il a été démontré qu'une corrélation existe entre la résistance au sérum et la virulence des souches inoculées par voie intraveineuse chez des dindes de trois semaines (ELLIS et al, 1988). D'autre part, il a été démontré qu'une forte corrélation existe entre la résistance au sérum et le taux de létalité chez des poussins d'un jour (IKE et al, 1992).

### 3.1.3. Systèmes de séquestration du fer

La faible quantité de fer disponible dans les liquides physiologiques ne permet pas aux bactéries de pouvoir s'y multiplier. C'est pourquoi, elles ont acquis un système très efficace de captation du fer leur permettant de survivre en présence de faibles concentrations en métal. Ainsi pour capturer ce métal, certaines bactéries sécrètent de petites molécules organiques ayant de l'affinité pour le fer. On appelle ces substances des sidérophores (aérobactine, yersiniabactine, entérobactine). En même temps, ces bactéries s'équipent à leur surface de protéines spécifiques permettant l'entrée, dans la cellule, de ces complexes fer-sidérophores. (ROBINEAU et al, 2010)

Plusieurs études ont montré que la plupart des souches *APEC* (73-98%) possède le système d'acquisition du fer appelé aérobactine, alors que les souches non pathogènes le produisent moins fréquemment (DHO et LAFONT, 1984; LAFONT et al, 1987; EMERY et al, 1992).

### 3.1.4. Toxines

Les toxines comme l'hémolysine et la cytotoxine nécrosante dont l'effet est de favoriser le franchissement de la barrière épithéliale par les colibacilles. Sont également à prendre en compte parmi ces facteurs (ROBINEAU et al, 2010).

Quelques études ont démontré que les souches *APEC* sont capables de produire des toxines pouvant être impliquées dans le processus pathogénique.

### 3.1.5. Protéine Tsh

Une hémagglutinine sensible à la température est codée par le gène *tsh* (*thermo sensitive hemagglutinin*) isolé d'une souche *APEC* de poulet et localisé sur un plasmide. Ce gène est associé préférentiellement à ces souches *APEC* et ne se retrouve pas chez des souches d'*E. coli* isolées de fèces d'animaux sains (ROBINEAU et al, 2010).

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

### 3.1.6. Capsule K1

Les polysaccharides capsulaires seraient essentiels à la virulence extra-intestinale des *APEC* (GROSS, 1994). Ils interviendraient ainsi dans la résistance au système immunitaire, en augmentant leur résistance aux effets bactéricides du sérum et à la phagocytose via l'interaction avec le système du complément (MELLATA et al, 2003).

### 3.1.7. Lipopolysaccharides (LPS)

Le LPS est formé d'un oligosaccharide et d'une chaîne polysaccharidique : l'antigène O. Ce dernier n'entraîne pas directement de lésion mais augmente la production de cytokines et de médiateurs de l'inflammation responsables de lésions tissulaires et vasculaires. De plus, l'antigène O contribuerait à la virulence en inhibant notamment la phagocytose et la voie alterne du complément (JOINER, 1988).

### 3.1.8. Colicine

La colicine n'est pas à proprement parler un facteur de virulence mais plutôt un marqueur : c'est un antibiotique produit par les colibacilles qui tue les bactéries voisines, créant une niche écologique favorable à leur développement (ROBINEAU et al, 2010).

## 3.2 Classification des APEC

Les premières études menées sur les colibacilles aviaires par SOJKA et CARNAGHAN (1961) montrent que les sérogroupes les plus fréquents sont O1, O2, O35 et O78. Plus récemment, des études menées sur 112 souches d'*E. coli* isolées de cas de colibacillose au Canada par DOZOIS et collaborateurs (1992), ont montré que 16 sérogroupes étaient représentés parmi lesquels les sérogroupes O78 (52 %) et O1 (6 %) étaient les plus fréquemment rencontrés.



### 3.3 Etude clinique et nécropsique

#### 3.3.1 Expressions cliniques des infections aviaires à *E. coli*

##### • Colibacillose respiratoire

Cette pathologie constitue l'expression principale de la colibacillose. Les manifestations cliniques sont celle de la maladie respiratoire clinique : abattement, indolence, inappétence, râles, toux, éternuement, jetage et larmolement (DUFAY, 1999).

Si la maladie vient compliquer une autre affection, les signes sont d'abord ceux de la maladie primaire. Si elle est primitive, son évolution sera suraiguë avec une mortalité dépassant les 20 % et un taux de mortalité inférieur à 5 % sauf complication (VILLATE, 1997).

Cependant, les pertes sont plus souvent d'ordre économique, avec une réduction significative de la croissance des animaux et une augmentation du coefficient alimentaire et des saisies à l'abattoir (YOGARATNAM, 1995 ; ELFADIL et al, 1996).

##### • Septicémie et complexe respiratoire chronique

Cette pathologie constitue l'expression principale de la colibacillose et affecte particulièrement l'élevage de poulets de chair, avec un taux de mortalité pouvant atteindre dans certains cas 30 à 50 %. Cependant, les pertes sont plus souvent d'ordre économique, avec un taux de morbidité pouvant dépasser 50 %, une réduction significative de la croissance des animaux et une augmentation du coefficient alimentaire et des saisies à l'abattoir (YOGARATNAM, 1995 ; ELFADIL et al, 1996).

Le premier signe clinique rencontré est une chute importante de la consommation alimentaire. Ensuite, de l'abattement accompagné d'hyperthermie (42 à 44°C) se manifestent.

Les animaux les plus atteints présentent alors des signes de détresse respiratoire (bec ouvert, respiration accélérée et irrégulière).

##### • Dermatite nécrotique

Cette expression de la maladie consistant en l'apparition de plaques de fibrine sous la peau située dans la partie inférieure de l'abdomen, n'entraîne ni mortalité ni signes cliniques mais est responsable de pertes économiques substantielles, notamment à l'abattoir. Dans ce type de lésions, *E. coli* est toujours la bactérie qui prédomine (GROSS, 1994).

- **Granulomes à *Escherichia coli* (" Hjarres's disease ")**

L'expression de cette maladie est retrouvée à l'âge adulte et associée à des mortalités sporadiques. Elle est peu fréquente, mais peut cependant entraîner un taux de mortalité avoisinant 75 % dans certains lots. Les lésions sont caractérisées par l'apparition de granulomes dans le foie, le caecum, le duodénum et le mésentère ressemblant à des lésions de leucose.

Les animaux présentent peu de symptômes avant leur mort si ce n'est une perte de condition et de l'abattement. La mort survient suite à la rupture de ces granulomes.

- **Omphalites**

Observées sur des poussins dès l'éclosion. Ces derniers présentent une faiblesse générale avec un tassement près des éleveuses. Le nombril, normalement résorbé en 72h, persiste et est fortement enflammé. La mortalité est élevée, les survivants accusent un fort retard de croissance (STORDEUR et MAINIL, 2002).

- **Arthrites et les synovites**

Observées en général chez les sujets qui ont survécu à une colisepticémie ou suite à une arthrite virale (réovirus) ou bactérienne (*mycoplasma synoviae*) ou encore à un traumatisme. L'animal trouve des difficultés pour se déplacer. Elles se manifestent par une chaleur et des douleurs à la palpation (GORDEN, 1979).

- **Swollen head disease**

La "*Swollen head disease*" est souvent associée à la colibacillose. Cette maladie est caractérisée par une inflammation aiguë à subaiguë des cellules de la peau et du tissu sous-cutané de la tête et des régions périorbitaires.

La colonisation des tissus par les colibacilles est secondaire à une infection par des agents prédisposants comme les virus (pneumovirus, paramyxovirus, coronavirus) ou des teneurs élevées en ammoniac (WHITE et al, 1990). La morbidité est souvent faible (1 %), mais les animaux présentant les symptômes en meurent dans la majorité des cas (PARREIRA et al, 1998).

La maladie apparaît le plus souvent aux alentours de la 30<sup>ème</sup> semaine et les conséquences les plus importantes sont des retards de croissance qui résultent de l'infection et entraînent des pertes économiques conséquentes.

- **Ovarites et salpingites**

Ces troubles du tractus génital, peuvent être soit la conséquence d'une infection par voie ascendante consécutive à une insémination artificielle, soit associés à des lésions de péritonite et/ou d'impaction de l'oviducte.

Cette maladie, plus souvent chronique, apparaît lorsque le sac aérien abdominal gauche est atteint par les *E. coli*. Les bactéries se propagent alors, par contiguïté de tissu, pour atteindre l'oviducte et y persister quelques temps. Les animaux malades meurent dans les 6 mois suivant l'infection (GROSS, 1994).

### 3.3.2. Etude nécropsique

- **Septicémie et complexe respiratoire chronique**

Au niveau lésionnel, les organes les plus touchés sont les sacs aériens (aérosacculite), le foie (périhépatite), le cœur (péricardite) et par contiguïté de tissu, la cavité abdominale (péritonite). Au niveau du cœur, le péricarde prend un aspect opaque et œdémateux et se remplit d'un exsudat fibrineux.

Les sacs aériens quant à eux perdent leur transparence, s'épaississent et présentent un aspect congestif.

Quant aux autres organes, tels que le foie et la rate, les lésions sont surtout localisées en périphérie de ceux-ci et sont caractérisées par de la congestion, un épaissement du tissu et un dépôt de fibrine. Ce dépôt est parfois tellement important que la surface de l'organe prend l'aspect d'une crêpe (JORDAN et PATTISON, 1996).

- **Omphalites**

Les lésions correspondent à l'altération du sac vitellin dont le contenu est de consistance allant de aqueuse à grumeleuse et de coloration jaune brune au vert (VILLATE, 1997).

- **Arthrites et les synovites**

Les surfaces articulaires sont normales avec du pus allant de crémeux à caséux (GORDEN, 1979).

- **Swollen head disease**

Les lésions microscopiques consistent en l'apparition d'un œdème de la tête et de la région périorbitaire, d'un exsudat caséeux dans le tissu conjonctif de ces mêmes régions ainsi qu'au niveau des glandes lacrymales (PATTISON et al, 1989).

- **Ovarites et salpingites**

D'un point de vue histologique, les lésions consistent en une diminution de l'épaisseur des parois de l'oviducte, la présence d'hétérophiles, de fibrine et de débris nécrotiques caséifiés (GROSS, 1994).

#### **4. Diagnostic :**

Le diagnostic de la colibacillose aviaire repose d'abord sur le tableau clinique et la présence de lésions évocatrices mais non spécifiques telles que de l'aérosacculite, parfois accompagnée de péri-hépatite et de péricardite. Il faut cependant garder à l'esprit que ces lésions peuvent aussi être engendrées par d'autres agents pathogènes.

Le diagnostic est confirmé par un isolement au laboratoire (STORDEUR et MAINIL, 2002).

En présence de lésions évoquant la colibacillose, seuls un isolement et une identification de l'agent responsable sur base de réactions biochimiques permettront de confirmer la maladie. Les prélèvements seront réalisés à partir du sang du cœur et des tissus affectés (foie, rate, sac péricardique) en évitant toute contamination par le contenu intestinal. Les prélèvements seront ensemencés en milieux appropriés (bleu d'éosine méthylène ou EMB, MacConkey agar ou Drigalski agar). Les indicateurs biochimiques sont la production d'indole, la fermentation du glucose en milieu aérobie, la présence de  $\beta$ -galactosidase, l'absence de production de sulfite d'hydrogène et d'uréase, ainsi que la non utilisation du citrate comme source de carbone (DHO-MOULIN et FAIRBROTHER, 1999).

L'appartenance à des sérotypes reconnus comme pathogènes (O1, O2 et O78) et la présence d'un certain nombre de facteurs de virulence bien définis (fimbriae P, l'aérobactine et la protéine Tsh) permettront de confirmer le diagnostic. La sérotypie et la recherche du système de l'aérobactine peuvent être réalisées par des méthodes immunologiques. Les autres facteurs

de virulence étant recherchés par des méthodes de biologie moléculaire telles que la PCR ou l'hybridation sur colonies.

## 5. Traitement

Les colibacilloses sont les infections bactériennes les plus fréquentes chez les volailles. Elles représentent vraisemblablement la première cause de traitement antibiotique dans les élevages et l'émergence de souches résistantes est une préoccupation légitime (ROBINEAU et al, 2010).

Les antibiotiques utilisés sont ceux actifs contre les Gram négatifs ou à large spectre, et leur choix est guidé par la forme de la colibacillose en présence.

### 5.1. Forme respiratoire

Etant donnée la fréquence de l'association colibacillose-mycoplasmoses, il est souvent indispensable d'opter pour l'association de macrolides à des aminosides telle que streptomycine-spiramycine ou streptomycine-tylosine (VILLATE, 1997).

### 5.2. Forme septicémique

L'antibiotique utilisé dans cette forme doit présenter une bonne absorption intestinale afin de pouvoir diffuser dans tout l'organisme, c'est le cas de nitrofuranes et de l'association triméthoprime-sulfamides (BORNE, 1998).

### 5.3. Forme digestive

Dans ce cas, l'indication portera sur les antibiotiques ne traversant pas la paroi intestinale, ce qui permettra leur concentration dans le tube digestif. Les aminosides (colistine) et leurs apparentés (spectinomycine) sont les plus indiqués (LECOANET, 1992).

Les antibiotiques les plus utilisés sont les sulfamidés, les bêta-lactamines, et les quinolones.

## 6. Prophylaxie :

### 6.1. Prophylaxie sanitaire

Elle vise à contrôler les contaminations environnementales, les vecteurs animés ou inanimés, afin de réduire au maximum les facteurs prédisposant aux infections respiratoires.

Une des méthodes consiste à réduire et à mieux contrôler les contaminations fécales par des sérogroupes pathogènes par exemple, en réduisant la transmission des *E. coli* de la poule au poussin par une fumigation des œufs dans les 2 heures qui suivent la ponte, en les récoltant le

plus vite possible après la ponte et en écartant ceux en mauvais état ou présentant des souillures fécales à leur surface (GROSS, 1994).

Les infections du tractus respiratoire des animaux peuvent être réduites en garantissant des animaux indemnes de mycoplasmes et en contrôlant mieux certains facteurs environnementaux comme l'humidité, la ventilation, la teneur en poussière et en ammoniac dans l'air (OYETUNDE et al, 1978).

Les rongeurs, les insectes parasites, coprophages, nécrophages sont aussi des réservoirs potentiels de colibacilles et doivent être systématiquement détruits.

La qualité de l'eau de boisson est aussi très importante, il faut dès lors veiller à la changer très régulièrement.

Des mesures générales de séparation des animaux par classes d'âge et par espèce, de nettoyage, de désinfection et de vide sanitaire entre chaque lot sont aussi des mesures de prévention indispensables dans le cadre de la lutte contre la colibacillose (JORDAN et PATTISSON, 1996).

## 6.2. Prophylaxie médicale

A l'heure actuelle, aucun vaccin efficace n'est disponible sur le marché vétérinaire. Cependant, même si un certain nombre d'essais vaccinaux ont été effectués à l'aide de souches atténuées en modèles expérimentaux et couronnés de succès avec des souches homologues, ils n'en restent pas moins inefficaces envers des infections avec des souches hétérologues de terrain (DHO-MOULIN et FAIRBROTHER, 1999). Ceci n'est pas surprenant, étant donné l'énorme diversité que représentent les souches *APEC* en matière de facteurs de virulence et le peu de données concrètes à leur sujet.

**Chapitre III :**

**Antibiotiques et  
Antibiorésistances**

## 1. Antibiotiques

### 1.1 Définition

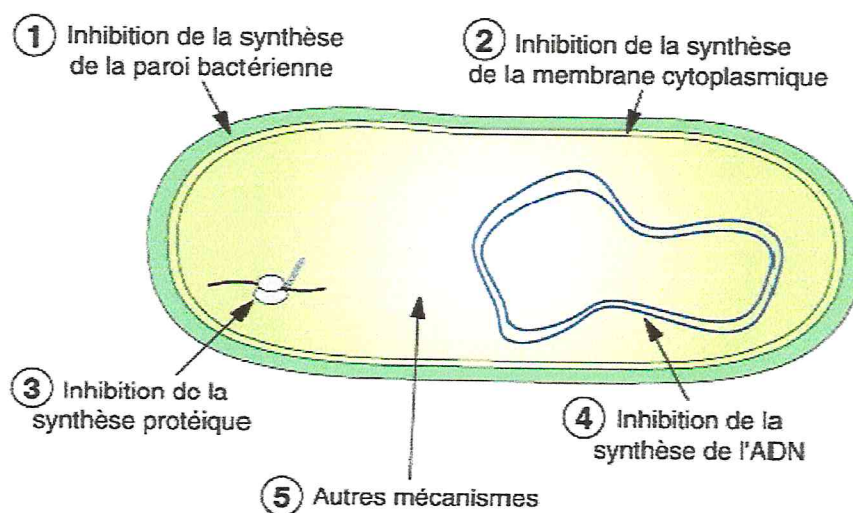
Un antibiotique est une substance antimicrobienne d'origine biologique, c'est à dire produite par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres microorganismes (YALA et al, 2001).

D'après les bactériologistes, les antibiotiques sont des composés naturels ou chimiques qui agissent à faibles doses sur les micro-organismes et qui n'ont pas de toxicité sur l'hôte.

### 1.2. Mécanismes d'action

Les antibiotiques agissent essentiellement par l'inhibition spécifique d'une étape précise d'une fonction bactérienne. Ils se fixent sur des sites moléculaires de la cellule bactérienne entraînant ainsi la perturbation de diverses réactions métaboliques, sans affecter la cellule hôte, ce qui nécessite la connaissance, de plus en plus précise, des fonctions spécifiques et vitales de la bactérie, lesquelles, pourraient constituer des cibles potentielles. Ces dernières sont caractéristiques de chaque famille (POYART, 2003).

La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques de la bactérie. Chaque famille d'antibiotique possède son site d'action propre (Figure2 )



**Figure 2 :** mode d'action des antibiotiques ([www.bacteriologie.net](http://www.bacteriologie.net)).



### 1.3. Usage des antibiotiques en espèce aviaire

La distribution d'antibiotiques 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 chimiques non utilisés chez l'homme) en comparaison de certains antibiotiques utilisés en thérapeutique, comme les tétracyclines et les pénicillines, leur emploi est susceptible de sélectionner des bactéries résistantes.

La liste des additifs de la catégorie « antibiotiques », autorisés a été considérablement réduite au cours des dernières années du fait de mesures prises pour diminuer leur impact sur les résistances bactériennes.

90% des antibiotiques 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 LOUISOT, 1998).

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

**Tableau 2 :** Principaux antibiotiques utilisés en aviculture (MOGENET et FEDIDA, 1998)

Familles	Exemples
<b>Bêta-lactamines</b>	Aminopénicillines : Ampicilline et Amoxycilline
	Céphalosporines : Ceftiofur
<b>Aminosides et apparentés</b>	Dihydrostreptomycine (DHS), Gentamycine, Néomycine, Spectinomycine, Framycétine
<b>Quinolones</b>	Acide oxolinique, Fluméquine, Enrofloxacin, Difloxacin, etc
<b>Tétracyclines</b>	Chlortétracycline, Oxytétracycline, Doxycycline
<b>Polypeptides</b>	Colistine (polymyxine E)
<b>Macrolides et apparentés</b>	Érythromycine, Josamycine, Lincomycine, Spiramycine, Tylosine, Tilmicosine
	Tiamuline (pleuromutiline)
<b>Sulfamides</b>	Sulfadiazine, Sulfamidine, Sulfadiméthoxine, Sulfaquinoxaline
<b>Diaminopyrimidines</b>	Triméthoprime

## 2. Antibiorésistance ou Résistance bactérienne aux antibiotiques :

### 2.1 Définitions

La résistance bactérienne à un antibiotique 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 clinicien, c'est l'absence de guérison bactériologique après un traitement adapté et mené selon un bon protocole. 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 Types 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 germe (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 conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (YALA et al, 2001).

L'acquisition de mécanismes de 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 des bactéries aux antibiotiques.

### 2.3. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques :

En pratique, la pression de sélection et ces différents types de support génétiques permettent à la bactérie d'acquérir 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 se lier à sa cible cellulaire.

Le principal mécanisme de résistance est la production de bêtalactamases, enzymes qui hydrolysent le cycle bêtalactame et rendent donc la bactérie résistante à certaines bêtalactamines.

La bactérie synthétise une bêtalactamase qui va hydrolyser le cycle bêtalactame. 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 bêtalactamases responsables de la résistance aux bêtalactamines 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 de nombreuses entérobactéries comme *Klebsiella*, *Salmonella*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Proteus* et plus rarement 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 évènement 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 camouflage de cette dernière ou par le remplacement de la cible par une molécule pour laquelle l'antibactérien 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 resistance).

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, donc potentiellement impliqués dans la résistance. Même si l'efflux est souvent responsable de niveaux modérés de résistance, il peut contribuer à des diminutions d'activité des antibiotiques lors de l'association de plusieurs pompes, ou par 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 3 :** Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (SANDERS, 2001).

Antibiotiques	Mécanismes de la résistance (élément bactérien en cause)
Bétalactamines	Modification de la cible (Penicillin Binding Protein) Altération du système d'influx Hydrolyse du cycle bétalactame 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 Dégradation enzymatique de l'antibiotique
Fluoroquinolones	Mutation modifiant le site 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, triméthoprim	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 :

- spontanées : 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 peut aboutir à une résistance croisée pour des antibiotiques 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 bactéries cohabitantes de même espèce ou d'espèces différentes.
- elles peuvent concerner plusieurs antibiotiques ou plusieurs familles d'antibiotiques et peuvent entraîner des polyrésistances.

#### ► Plasmides :

Ce sont des molécules d'ADN bicaténaires, 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 de plusieurs gènes de résistance : ce sont des plasmides R (plasmides de résistance).

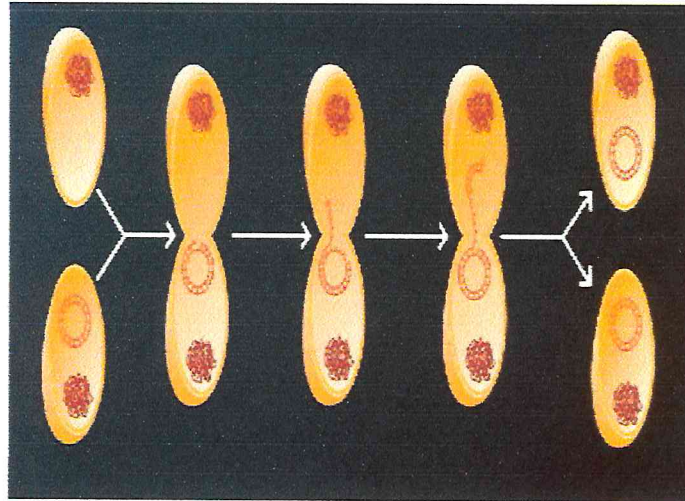
Chez les bactéries pathogènes d'origine animale, la résistance multiple est principalement plasmidique, souvent transférable

Le facteur de résistance est formé de 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).



**Figure 3 :** Représentation schématique de conjugaison plasmidique (PERICHON et COURVALIN, 2009).

► **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. Les cassettes sont des unités mobiles qui peuvent être facilement intégrées dans un intégron 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 :

Des fragments d'ADN bactérien (pouvant être libérés lors de la lyse bactérienne) peuvent pénétrer dans d'autres bactéries et s'intégrer par recombinaison dans leur ADN. Ce processus ne s'observe que dans certaines espèces bactériennes, appartenant notamment aux genres *Streptococcus*, *Neisseria*, *Haemophilus*. Il faut en outre que la bactérie recevant le fragment d'ADN soit dans un état particulier, dit de compétence.

### 2.5.2. Transduction

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 injecte 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 bactéries accolées. Le transfert se fait d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice. La bactérie donatrice exprime à sa surface des structures permettant 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 peu connu 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 la cible suite à la mutation des gènes de structure, diminuant l'affinité de l'antibiotique pour sa 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 à des gènes de résistance à d'autres familles d'antibiotiques.

Depuis 1998, la découverte de gènes de support plasmidique impliqués dans la résistance aux quinolones chez les entérobactéries a suscité de nombreuses études épidémiologiques 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 de leur activité antibiotique (TRAN, 2005).

Enfin, l'origine des gènes du type *qnr* ou leur réservoir demeurent inconnus. La sélection de ces gènes peut être la résultante d'une pression de 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 entérobactéries font partie 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 exemplaires 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 à l'hybridation d'amorces complémentaires de séquences encadrant la zone à amplifier.
- Au cours de la troisième étape, l'élongation des amorces permet de synthétiser un brin complémentaire 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 différentes manières. Nous donnerons quelques exemples sans être exhaustifs :

- La PCR classique : il s'agit de la PCR telle qu'elle a été initialement décrite. Après amplification, la cible est détectée sur un gel d'agarose après addition d'un agent intercalant (BET : bromure d'éthidium) et exposition aux UV ;
- La PCR multiplex : plusieurs couples d'amorces sont ajoutés dans un même tube et la PCR s'effectue en même temps pour chaque couple d'amorces. La PCR multiplex permet donc la mise en évidence de plusieurs cibles dans un seul tube. Elle peut être réalisée de manière conventionnelle (PCR classique), par PCR-Elisa ou par PCR en temps réel;
- La PCR en temps réel : En sus des amorces utilisées pour la PCR proprement dite, une ou deux sondes (selon la technique utilisée) sont ajoutée(s) 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 résistance 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).

# **Etude expérimentale**

**MATERIELS ET METHODES :**

Pendant la période du 28 Novembre 2014 au 05 Avril 2015, notre étude s'est effectuée sur 77 poulets de chair. Au cours de l'autopsie, des prélèvements d'organes (154) foie, cœur, rate, sac vitellin et rein ont été réalisés pour des examens ultérieurs.

**I. Animaux:**

Le nombre d'animaux autopsiés au niveau de la région de Tiaret est 77 sujets.

Des poulets suspects de colibacillose âgés entre 1 et 14 semaines, ont été reçus au sein du laboratoire de microbiologie de l'Institut Vétérinaire de Tiaret (ISV) <<Université Ibn Khaldoun-Tiaret>> provenant d'élevage de reproductrice chair.

**II. Matériel :****Tableau N° 04:** 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 -Pecni -Pied à coulisse métallique	-Flacons -Boîtes de pétri -Pipettes pasteurs -Tubes à essai -Eprouvette graduée -Lame et lamelle	-Eau physiologique 0,9% -Fuschine -Huile à immersion -Violet de gentiane -Lugol -Eau oxygénée -Alcool 70° -Reactif Kovac's -Reactif TDA -VP1 -VP2 -Disques d'Antibiotiques -Disques d'oxydases	-Muller Hinton -Mac Conkey -Hecktoen -GN -Galerie API 20E

### III. Méthodes:

#### 1. Autopsie:

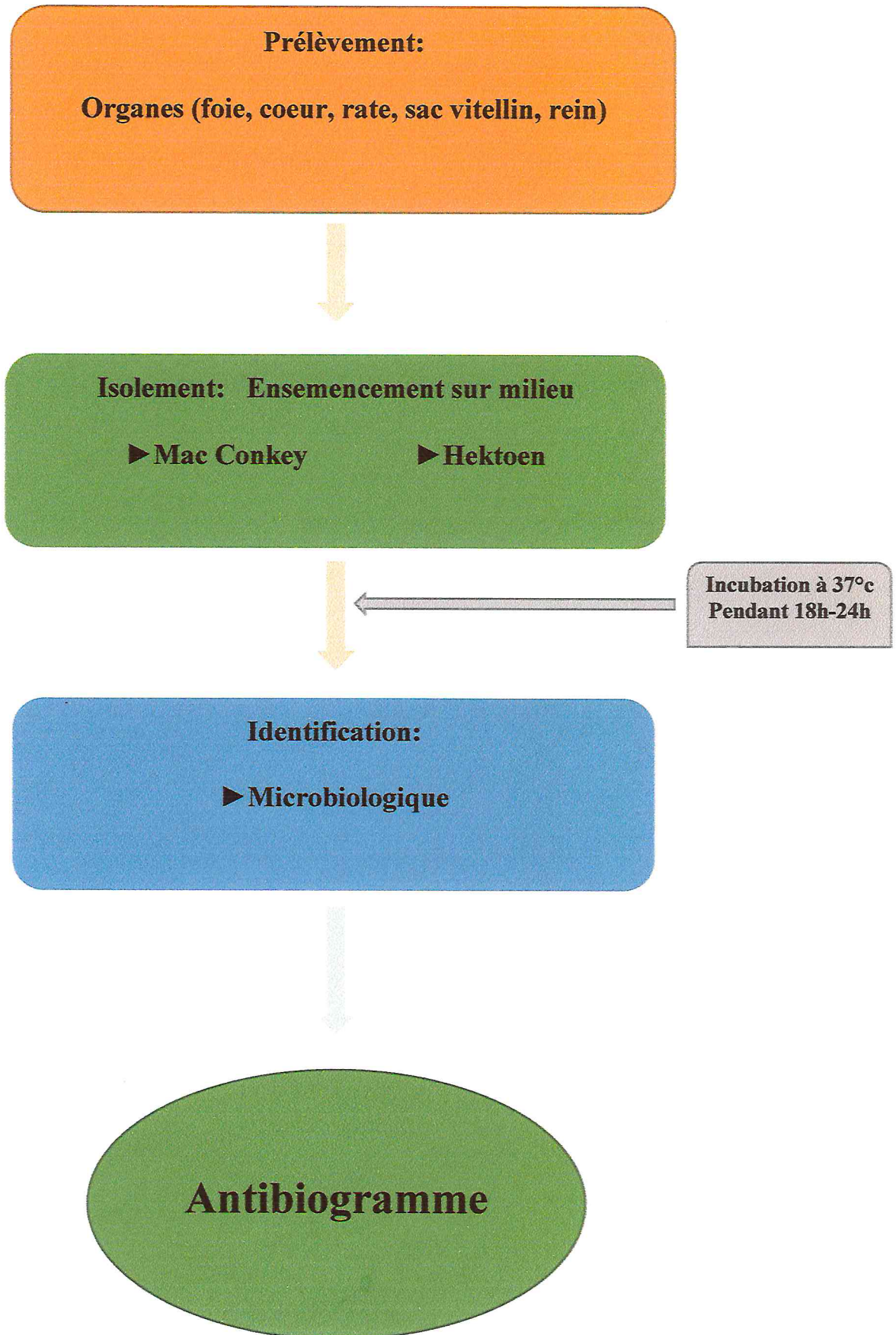
L'autopsie est un temps essentiel au diagnostic en pathologie aviaire : elle nécessite à la fois une connaissance des techniques d'autopsie, de la topographie normale des organes, mais aussi des principales images lésionnelles que l'on peut rencontrer dans la pratique courante.

**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, cœur, rate et rein) ont été prélevés et déposés dans des boîtes de pétri stériles pour être acheminés au laboratoire. Ensuite, la surface de l'organe est flambée puis on introduit un écouvillon qu'onensemence sur un milieu d'enrichissement McConkey ou Hektoen et elles sont acheminées dans un incubateur.

Après une incubation de 18 à 24 h 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 4 :** Protocole d'isolement et d'identification (Institut Pasteur Algérie)

## 2. Bactérioscopie (coloration de Gram)

Le 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 secondes), cette étape engendre l'aspect différentiel de la coloration de Gram: les bactéries Gram positif gardent le cristal violet tandis que les bactéries Gram négatif 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 secondes), colore les bactérie 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 de bactéries gram négatif possèdent 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  $H_2O_2$ , 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 disques imprégnés de ce réactif (disques oxydase) (figure 5), 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 apparaît ça veut dire que la bactérie est oxydase- et qu'elle ne possède pas l'enzyme respiratoire.

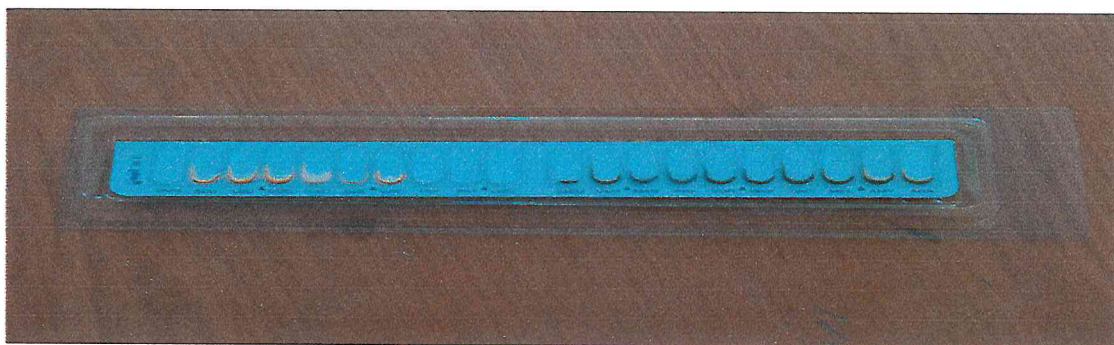
Il ne faut pas utiliser une anse en métal car elle serait oxydante.



**Figure 5:** Disque d'oxydase

Les colonies qui sont Gram-, catalase + et oxydase-, seront identifiées à l'aide de la galerie API 20E, c'est une galerie biochimique qui comprend 10 caractères différents, le TSI et la mannitol-mobilité.

#### 5. Identification biochimique par API 20E:



**Figure 6 :** Plaque API 20 E

La plaque API 20E, contient 20 microtubes contenant de milieux de culture déshydratés, qui seront inoculés par une suspension bactérienne. Après incubation de 18 à 24h à 37°C, les réactions se traduisent par un virage de la couleur du milieu spontané ou après addition de réactifs. En suite la lecture se fait selon un logiciel API 20 E V4.1 (Annexe IV et V).

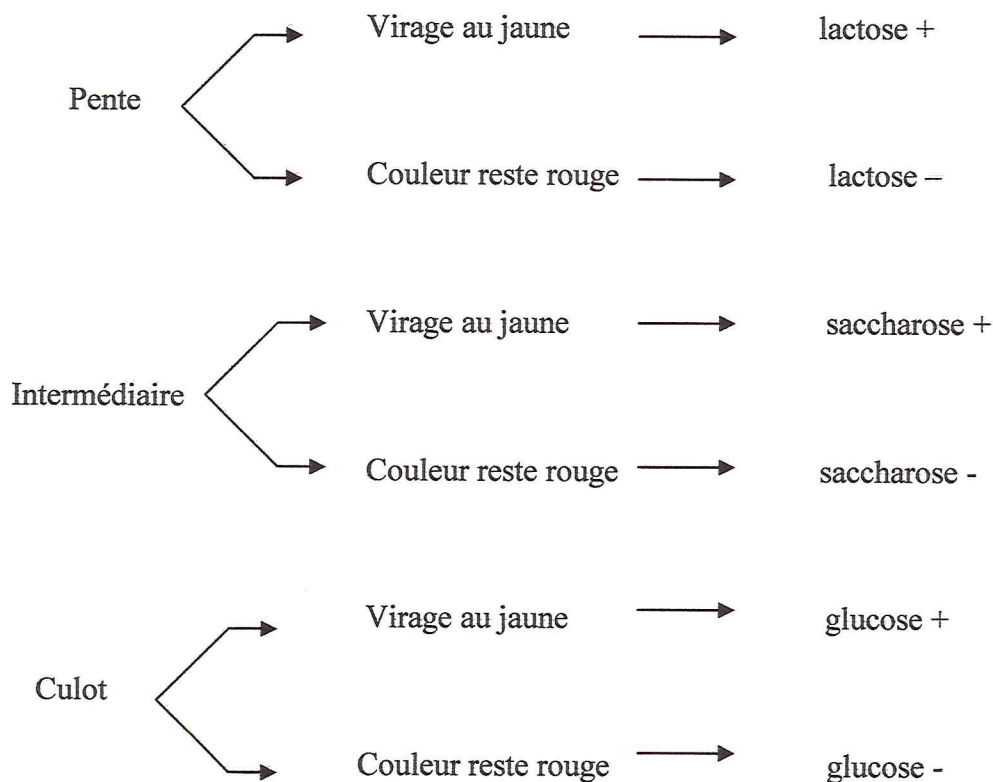
La suspension bactérienne est réalisée à partir d'une culture jeune, en homogénéisant une colonie avec 5 ml d'eau physiologique. Ensuite à l'aide d'une pipette Pasteur, introduire la suspension dans les microtubes.

La galerie API 20E nous permet d'identifier les caractères suivants: ONPG ( Ortho-Nitro-Phényl Galactoside), Glucose, Arabinose, LDC (Lysine décarboxylase), ODC (Ornithine décarboxylase), Citrate, H<sub>2</sub>S, Urée, TDA (Tryptophane Désaminase) et Indol.

### 5.1 Test des 9 sucres:

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

La production d'H<sub>2</sub>S qui colore le milieu en noir due à la formation du sulfure de fer :

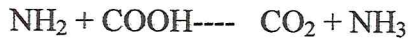


Noircissement du milieu  $\longrightarrow$  production d' $H_2S$

Formation de bulles  $\longrightarrow$  production de gaz

### 5.2 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» croît 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

### 5.3. 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 Kovac's 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

Sur la plaque API 10S, on inocule le microtube contenant l'indole, et après 18 à 24h on ajoute le réactif Kovac's. la réaction positive se traduit par une coloration rose du milieu.(Annexe II).

### 5.4. 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 (Ortho-Nitro-Phényl Galactoside) (est scindé par la galactosidase en galactose et en O-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.

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

Coloration jaunâtre du milieu → réaction positive

Milieu ne change pas de couleur → réaction négative

#### 5.5. Test du mannitol-mobilité:

Ce test permet à la fois de tester l'utilisation du mannitol conduisant à la formation du fructose qui se traduit par une acidification entraînant un jaunissement du milieu et la mobilité des bactéries qui se traduit par une diffusion de la piqûre centrale.

A l'aide d'une anse de platine, on ensemence par piqûre centrale le milieu mannitol-mobilité et on incube à 37°C pendant 24 heures:

Milieu devient jaune → mannitol positif

Milieu reste rouge → mannitol négatif

Trouble du milieu → mobilité positive

(Diffusion des bactéries de la ligne d'ensemencement)

Croissance le long de la piqûre seulement → mobilité négative

#### 5.6. Test du citrate:

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

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

Coloration bleue du milieu → citrate positif  
Coloration reste verte pâle → citrate négatif

### 5.7. Test de lysine, ornithine décarboxylase et de l'arginine dihydrolase:

La lysine, l'ornithine et/ou d'autres acides aminés peuvent être décarboxylés par certaines espèces bactériennes. Cette activité décarboxylasique peut servir à distinguer divers sérotypes de *Salmonella* et à identifier d'autres membres de la famille des entérobactériaceae.

On ensemence les milieux contenant :

1. L.D.C (Lysine décarboxylase)
2. O.D.C (Ornithine décarboxylase)

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

Coloration rouge → réaction positive  
Coloration jaune → réaction négative

Une fois les isolats identifiés comme *E. coli*, ils sont conservés à -20°C dans des tubes contenant la gélose nutritive pour subir ultérieurement le sérotypage et l'antibiogramme.

Les isolats doivent être revivifiés dans la gélose nutritive pendant 18 à 24 heures à 37°C pour s'assurer de leur viabilité et leur pureté.

### 6. 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 (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999).

Les antibiotiques utilisés figurent dans le tableau suivant :

**Tableau N° 05:** Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme

ANTIBIOTIQUES	FAMILLES
PENICILLINE	BETA-LACTAMINES PENICILLINES
AMPICILLINE	
OXACILLINE	
CEFOXITINE	BETA-LACTAMINES CEPHALOSPORINES
TETRACYCLINE	TETRACYCLINES
OFLOXACINE	QUINOLONES
ACIDE NALIDIXID	
COLISTINE	POLYPEPTIDES
ERYTHROMYCINE	MACROLIDES
GENTAMYCINE	AMINOSIDES

La figure ci-dessous, nous montre trois (03) tubes d'antibiotiques : Colistine, Tétracycline et Ampicilline



**Figure 7:** 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 le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

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 90mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24mm, 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 prolongée dans certains cas : oxacilline, glycopeptides et aminosides.

**Lecture :**

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI des entérobactéries, 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.



# Résultats et Discussions

## II. RESULTATS ET DISCUSSIONS

### ► RESULTATS :

#### 1. Lésions

L'examen nécropsique des poulets a révélé des lésions caractéristiques de la colibacillose : péricardite, périhépatite, aérosacculite, entérite et hypertrophie de la rate. (Annexe 1)



**Figure 8:** Hypertrophie du cœur avec péricardite séro-fibrineux.



**Figure 9:** Hépatomégalie et splénomégalie due à la colibacillose

La répartition de ces lésions est illustrée dans le tableau suivant :

**Tableau N° 06:** Répartition des lésions

Lésions	Nombre de sujets	Pourcentage(%)
Périhépatite	70	90,90
Aérosacculite	69	89,61
Péricardite	56	72,72
Entérite	65	84,41
Congestion de la rate	72	93,50

## 2. Bactériologie

Dans notre étude 77 sujets provenant de la région de Tiaret ont été autopsiés et on n'a recolté 154 souches ( foie, cœur, rate, sac vitellin et rein) dont la repartition est dans le tableau ci-dessous.

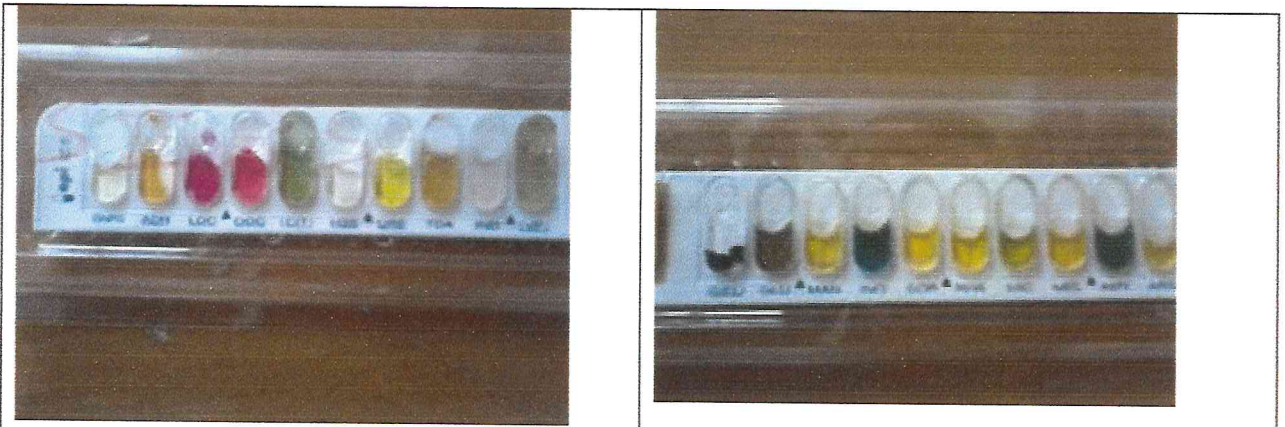
Le tableau suivant récapitule la répartition des souches récoltées à partir des sujets autopsiés.

**Tableau N° 07:** Répartition des souches récoltées

Souches	Nombre de souche
Foie	58
Coeur	45
Rate	30
Sac vitellin	18
Rein	03
Total	154



**Figure 10 :** colonies d'*E. coli* sur gélose Hecktoen après incubation de 24h à 37°C. Les colonies sont rondes, saumons et ont un aspect lisse.



**Figure 11:** Identification d'une souche *E. coli* avec la galerie API 20E

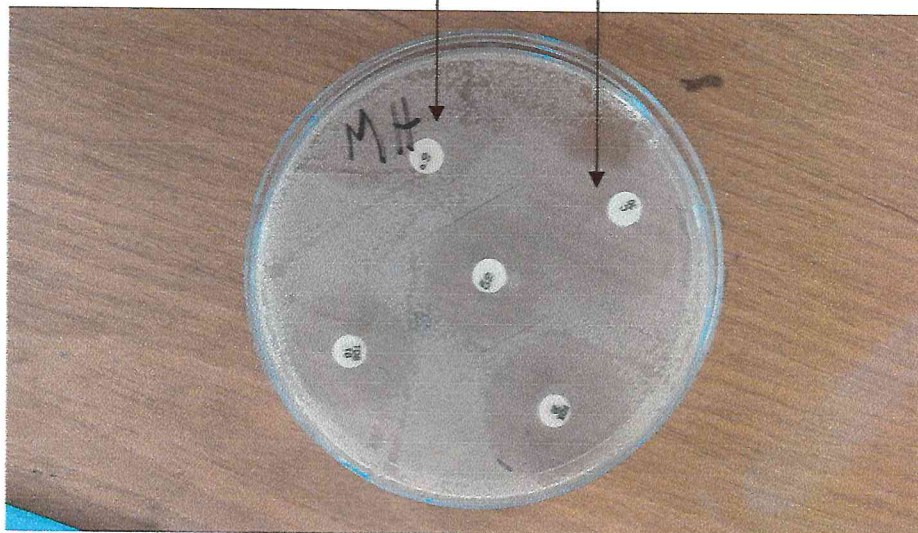
### 3. Antibiogramme

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:

Absence de zone d'inhibition

Zone d'inhibition



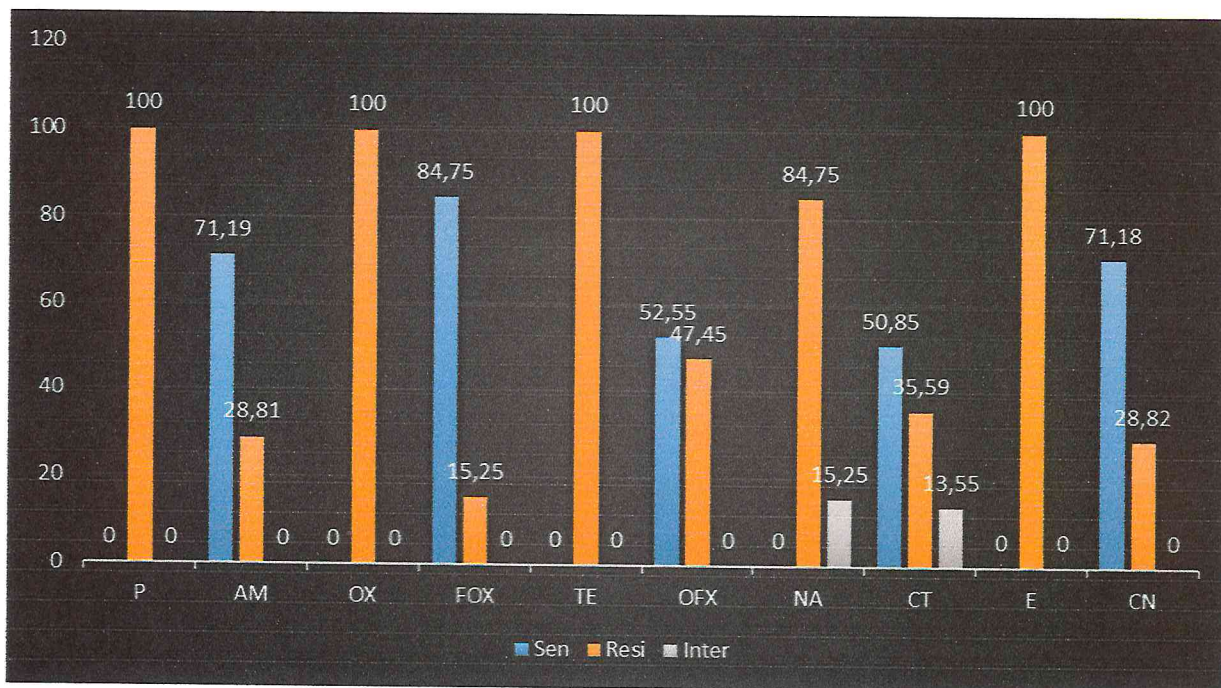
**Figure 12:** Antibiogramme après incubation

-Après incubation de 18h à 37°C, on observe une présence de résistance à la Pénicilline(Absence de zone d'inhibition) et aucune résistance à la Gentamycine, Cefoxitine (présence de zone d'inhibition).

La fréquence de résistance pour chaque antibiotique est reportée dans le tableau 08.

**Tableau N° 08** : Répartition des taux d'antibiorésistance des isolats d'*E. coli*

Antibiotiques	Sensibilité	S %	Resistance	R %	Intermédiaire	I %
Pénicilline (P)	0/59	0 %	59/59	100 %	0/59	0%
Ampicilline (AM)	42/59	71,19 %	17/59	28,81 %	0/59	0%
Oxacilline (OX)	0/59	0 %	59/59	100 %	0/59	0%
Céfoxitine (FOX)	50/59	84,75 %	09/59	15,25 %	0/59	0%
Tétracycline (TE)	0/59	0 %	59/59	100 %	0/59	0%
Ofloxacin (OFX)	31/59	52,55 %	28/59	47,45 %	0/59	0%
Acide nalidixique (NA)	0/59	0%	50/59	84,75%	09/59	15,25%
Colistine (CT)	30/59	50,85%	21/59	35,59%	08/59	13,55%
Erythromycine (E)	0/59	0 %	59/59	100 %	0/59	0%
Gentamycine (CN)	42/59	71,18%	17/59	28,82%	0/59	0%

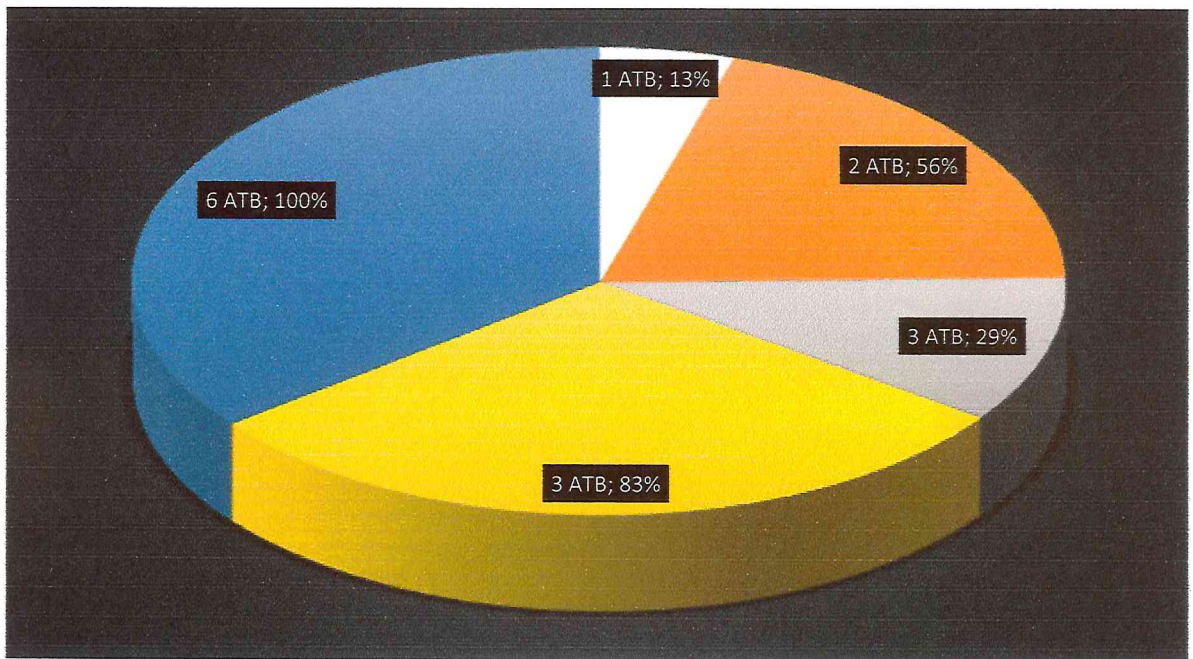


Sen= sensibilité Res= résistance Inter= intermédiaire

**Figure 13:** Taux d'antibiorésistance aux différents antibiotiques

**Tableau N° 09:** Pourcentages de multirésistantes des souches aux antibiotiques

Nombre d'antibiotiques	Pourcentage de souches résistantes
1	13%
2	56%
3	29%
3	83%
6	100%



**Figure 14 :** Pourcentages de multirésistance des souches isolées

## ► Discussions :

### Lésions

● A la lumière du tableau N° 06, 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 où les mécanismes de défense sont très limités notamment au niveau des sacs aériens d'où l'apparition des aérosacculites (89,61 %).

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 autres organes et provoquer leur altération, ce qui explique la périhépatite (90,90 %), la congestion de la rate (93,50 %) et la péricardite (72,72 %).

Peu de recherches suggèrent qu'*E. coli* soit la cause des entérites chez les volailles, mais elles ne sont pas suffisantes pour indiquer qu'il s'agit de l'étiologie. L'infection du tractus respiratoire par des sérotypes pathogènes 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° 7), nous avons pu isoler ce germe. A partir de ce résultat, nous pouvons suspecter avec une grande probabilité, la colibacillose, à partir des lésions uniquement.

A partir des 77 sujets autopsiés, 125 isolats d'*E. coli* ont été récoltés (chez certains, nous avons isolé deux souches).

● Sur les 77 poulets autopsiés, 65 présentaient les lésions citées dans le tableau N° 06 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 100 %, ce qui surplombe les résultats obtenus par FILALI et al (1988) où le taux était de 82 %, AMARA et al (1994) 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 tétracyclines 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 prévalence des souches résistantes à la tétracycline parmi les APEC dépasse parfois les 80% dans plusieurs études.

-Le taux de résistance aux bêta-lactamines(Pénicilline et l'Oxacilline) 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 ; KIM 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 Beta-lactames a été rapidement suivie par l'émergence de beta-lactamases à large spectre. Concernant l'ampicilline, son taux est de 56%. HAMMOUDI et AGGAD (2008) ont obtenu 47,20%, HAMED AMMAR (2009) aucune résistance, FILALI et al, (1988) de l'ordre de 14%.

COURVALIN et PHILIPPON expliquent que c'est une résistance acquise, habituellement due à une inactivation enzymatique (synthèse de bêta-lactamases), plasmidique ou chromosomique.

-Quant à l'Ofloxacin (quinolone), son taux de résistance est de 47,45 % alors qu'il était de 6 % dans l'enquête menée par HAMMOUDI en 2008, 23 % a été obtenu par AMARA et al en 1994 ; 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 génériques) avec des prix très

abordables, alors qu'il y a quelques années, il n'existait que la molécule mère qui était très cher.

-Le pourcentage de résistance est en croissance pour la Colistine (polypeptides), il est de 35,59%. Dans des études antérieures, HAMMOUDI et AGGAD (2008) est de 3 % ; FILALI et al (1988) 0% ; AHMED AMMAR (2009) 13%, BENAMEUR QADA (2011) 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.

-La fréquence de résistance pour la Gentamycine ( Aminoside) est de 28,82% . Il était de 3% AHMED AMMAR(2009), BENAMEUR QADA (2011) 7,82 %, FILALI et al (1988) aucune résistance.

Ce médicament n'est plus utilisé en thérapie vétérinaire car il cause des aplasies médullaires au niveau rénal mais ce faible taux s'explique par son utilisation pour la prévention des maladies bactériennes.

COURVALIN et al, démontre que c'est une résistance plasmidique croisée avec d'autres aminosides, mais aussi avec d'autres antibiotiques (ampicilline, tétracyclines, macrolides).

-Au sujet de l'acide nalidixique, nous constatons que le taux de résistance que nous avons obtenu est plus élevé (84,75%) 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 (penicilline, 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° 09 et figure 14), nous montre que 100% des isolats d' *E.coli* sont résistants pour 6 antibiotiques, 83% sont résistants pour au moins 3 antibiotiques, 56% pour au moins 2 antibiotiques, 29% pour au moins 3 antibiotiques et finalement 13 % des isolats sont résistants pour 1 antibiotique.

Ces taux ne sont pas semblables à ceux obtenus par BENAMEUR QADA (2010) qui sont de l'ordre de 100 ; 96.51 ; 92.20 ; 89.62 ; 85.31 ; 77.56 ; 48.25 ; 19.81 et 7.75% respectivement pour 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 9 antibiotiques.

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, 1997 ; 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 de traitement, et par conséquent diminution de la production à cause de l'augmentation 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 d'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 découvert dans les années 40, depuis ce temps, son utilisation comme promoteurs de croissance a été admise 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 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 (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'autres éléments génétiques qui portent 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 entérobactéries, et l'émergence de nouvelles multirésistances est favorisée par la mobilité des plasmides entre les différentes espèces d'entérobactéries (CAROTTOLI, 2009 ; CHOPRA and ROBERTS, 2001).

# **Conclusion et Recommandations**

## CONCLUSION

Les résultats obtenus montrent la quasi-totalité des isolats testés sont résistants aux tétracyclines (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 où 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 antibiotiques) 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 pertes économiques considérables (chute de production et de 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 intégrons 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.

### 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 recommandations:

- Organiser l'utilisation des antibiotiques chez les animaux en rendant leur prescription obligatoire 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 du 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.



# **Références bibliographiques**

1. Allan BJ, Van den Hurk JV, Potter AA ; 1993. Characterization of *Escherichia coli* isolated from cases of avian colibacillosis. Can. J. Vet. Res. Jul. 57, 146- 151.
2. Al Ghamidi MS, El Morsy F, Al Mustafa ZH, Al Ramadhan M , Hanif M; 1999. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry workers, patients and chicken in the eastern province of Saudi Arabia. Trop Med Int Health. 4, 278-283.
3. Amara A, Ziani Z, Bouzoubaa K; 1995. Antibioresistance of *Escherichia coli* strains isolated in Morocco from chickens with colibacillosis. Vet microbiology . 43, 325-330.
4. Arnes P., Marc D., Bree A., Schouler C., Dho-moulin M., 2000 . Increased tracheal colonization in chickens without impairing pathogenic properties of avian pathogenic *Escherichia coli* MT78 with a fimH deletion. Avian Dis., 44, 343-355.
5. Avril JL, Denis. F, Dabernat. H et Monteil. H., 2000. Bactériologie clinique. Paris : Ellipses, 3e édition ; 602 p.
6. Berche. P, 2002. Qu'est ce qu'un agent pathogène? Bactériologie générale PCEM2,
7. Blanco JE, Blanco M, Mora A, Blanco J, 1997. Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia coli* strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. J. Clin. Microbiol. 35, 2184-2185.
8. Bree. A, Dho-moulin. M, Lafont. J. P; 1989. Comparative infectivity for axenic and pathogen free chickens of O2 *Escherichia coli* strains with or without virulence factors. Avian dis. 1989, 33: 134- 139
9. Brugère- Picoux. J., 1992. Environnement et pathologie aviaire. Manuel de pathologie aviaire. 77-84.
10. Centres nationaux de références des *E. coli* et *Shigella*, 1999. Gouvernement de Canada.

11. Delicato Elaine. R, Benito Guimaraes de Brito, Luis Carlos J. Gaziri, Marilda C. Vidotto Virulence associated genes in *Escherichia coli* isolates from poultry with colibacillosis, 2003. *Vet. Microbiol.* 94, 97-103.
12. Devie. P, Divol. A, Gilbert. G, Laurent. S, 2005. Les antibiotiques dans l'alimentation animale.
13. Dho-moulin M, Fairbrother JM, 1999. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet Res.* 30, 299-316.
14. Dozois, 1994. Dozois. C. M, Pourbakhsh. S.A, Fairbrother. J.M, 1995. Expression of P and type 1 (F1) fimbriae in pathogenic *Escherichia coli* from poultry. *Vet. Microbiol.* 45, 297-309.
15. Dozois. C, Dho-moulin .M, Brée. A, Fairbrother. J.M, Desautels. C, Curtiss. III.R, 2000. Relationship between the Tsh autotransporter and pathogenicity of avian *Escherichia coli* and localization and analysis of the Tsh genetic region. *Infect. Immun.* 68, 4145-4154.
16. Emery, D.A., Nagaraja K.V, Shaw D.P., Newman. J.A., and White D.G, 1992. Virulence factors of *Escherichia coli* associated with colisepticemia in chickens and turkeys. *Avian Diseases.* 36, 504-511.
17. Euzéby. J. P., 1992. Résistance aux antibiotiques. Abrégé de bactériologie générale et médicale à l'usage des étudiants de l'école nationale vétérinaire de Toulouse.
18. Fedee. M. R, 1998. Relationship of structure and function of the avian respiratory tract. *Poultry Science.* 77, 1130-1138.
19. Fenardji F., 1990. Organisation, performances et avenir de la production avicole en Algérie. Institut de développement des petits élevages. CIHEAM, 253-256.

20. Feron. A, 1992. *Escherichia coli*. In Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. Editions Cet R. La Madeleine. , p. 164-169
21. Ferreira. A, Silveira .W. D, Brocchi. M, Hollanda. L., Pestana de Castro. A.F, Yamada. A.Tm Lancellotti. , 2002. Biological characteristics and pathogenicity of avian *Escherichia coli* strains. Vet. Microbiol. 85, 47-53.
22. Filali E, Bell JG, El Houadfi M, Huggins MB, Cook JK, 1998. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains isolated from chickens with colisepticemia in Morocco. Comp Immunol microbiol Infect Dis. 11.
23. Fontaine. M, 1993. Vade-Mecum du vétérinaire. 15 édi. Vol.1 et 3, 116-117, 1399.
24. Gordon. R. F, 1977. Colibacillosis. Poultry dis. 50 – 52
25. Gross.W. B, Calnek. B. W, Barnes. H.J, Beard. C. W., Reid. W. M, 1991. Colibacillosis. Disease of poultry 9<sup>th</sup> ed. Iowa State University Press, Ames, pp: 138 – 144.
26. Gross. W.G, 1994. Diseases due to *Escherichia coli* in domestic animals and humans. C. L Gyles, ed CAB International, Wallingford, UK. Pp : 237-259.
27. Guérin J. L, Boissieu. C, 2007. L'autopsie en pathologie aviaire, 1ère partie: protocole d'autopsie et anatomie des volailles. Ecole nationale vétérinaire de Lyon.
28. Hammoudi A, Aggad H, 2008. Antibioresistance of *Escherichia coli* strains isolated from chicken colibacillosis in western Algeria. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 32, 123-126.
29. La Ragione R. M, Woodward M. J. M, 2002. Virulence factors of *Escherichia coli* serotypes associated with avian colisepticemia. Res in Vet Sci. 73. 27-35.
30. Le Minor. L et Veron .M, 1989. Bactériologie médicale. Ed. Méd.Scién. Flam. 2<sup>ème</sup> édition.

31. Mainil. J., 2004. Bactériologie générale.
32. Mainil. J, 2005. Avian pathogenic *Escherichia coli*. University of Liege, Belgium.
33. Martel. M, 1997. Maladie à colibacille de la poule et la dinde. Comp. Rend. Soc. De biol. 49 : 500.
34. Manie. T, Khan. S, Brozrl. VS, Veith. WJ, Gouws. PA, 1998. Antimicrobial resistance of bacteria isolated slaughtered and retail chickens in south Africa. Lett Appl Microbiol. 26, 146-153.
35. Nadeau. M., Bergeron. H, Coté. G, Arseneault. G, Higgins. R, 1999. Programme québécois de surveillance de la résistance aux agents antimicrobiens des bactéries d'origine animale et alimentaire. Proceedongs agriculter's role in managing antimicrobial resistance "conference". Toronto.
38. NCCLS, 1999. Performance standars for antimicrobial susceptibility testing, ninth informational supplement. M 100- S 9, vol. 19, N° 1.
39. Norris. S, 1999. La résistance aux antibiotiques. Division de la science et de la technologie. Gouvernement de Canada.
40. Orskov. F, and Orskov. I, 1984. Serotyping of *Escherichia coli*. Methods in microbiol. Vol. 14, 45-112.
41. Parreira. V.R, Yano . T , 1998. Virulence factors of avian *Escherichia coli* associated with swollen head syndrome. Avian. Path. 27, 148-154.
42. Pattison. M, Jordan. F.T.W, 1996. Poultry Diseases. Fourth edition. 38-41.
43. Payne. S. M, 1988. Iron and virulence in the family enterobacteriaceae. Critical revue in microbiology. 16: 81 – 111

44. Pourbakhsh. S. A, Dho-moulin. M, Brée . A, Desautels. C, Martineau-Doizé.B, Fairbrother. J. M, 1997a Virulence mechanisms of avian fimbriated *Escherichia coli* experimentally inoculated chickens. Vet. Microbial. 58, 195-213, Microb. Pathogen. 22, 331.
45. Pourbakhsh S.A., Boulianne M., Martineau-DoizéB., Dozois CM., Desautels C, Fairbrother J.M., 1997 b. Dynamics of *Escherichia coli* infection in experimentally inoculated chickens. Avian Dis.41, 221-233.
46. Poyart. C, 2002. Résistance des bactéries aux antibiotiques. Bactériologie générale PCEM2. Faculté de médecine Necker Enfants malades.
47. Prescott, Lansing. M, 2007. Microbiologie. Page 28.
48. Quinn. P. J., Carter. M. E, Markey. B, Carter. G. R., 1994. Microbiologie clinique vétérinaire. Wolfe Publishing, Espagne. 1994.
49. Stordeur. P., Mainil.J, 2002. La colibacillose aviaire. Ann.Méd. Vét. 146, 11-16.
50. Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS., 2005. 3<sup>ème</sup> ed.
51. Vettier. C, 1998. L'antibiothérapie.
52. Villaté. D, 2001. Maladies des volailles. 235-241.
53. Zhraei Salehi. T, and Farashi Bonab. S, 2006. Antibiotic susceptibility pattern of *Escherichia coli* strains isolated from chickens with colisepticemia in Tabriz Province, Iran. International Journal of Poultry Science. 5, 677-684.

54. Zhao Shaahua, John. J. Maurer, Susannah Hubbert, Juan. F. De Vllena, Patrick. F. Mc Dermott, Jianghon Meng, Sherry Ayers Linda English, David. G. White, 2005. Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates. Vet Microbiol. 107, 215-224.

# Annexes



**Annexe I****Milieux utilisés:****Milieux d'isolement:****1. Gélose Hecktoen:**

Ce milieu est utilisé pour l'isolement des entérobactéries pathogènes. Il permet la différenciation des bactéries lactose positive.

**Composition:**

- Proteose peptone	12g
- extrait de levure	3g
- chlorure de sodium	5g
- Sels biliaires	9g
- Thiosulfite de sodium	5g
- Citrate de fer ammoniacal	1,5g
- lactose	12g
- salicine	2g
- saccharose	12g
- Fuschine acide	0,1g
- Bleu de bromothymol	0,065g
- Agar	14g
- Ph 7,5 (environ)	

**Lecture:**

- Colonies saumon à centre noir: *Proteus vulgaris*.
- Colonie bleues-vertes à centre noir: *Salmonella*
- Colonies bleues-vertes ou vertes: *Shigella*.
- Colonies saumon: *E. coli*, *Klebsiella*,

**2. 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
- Na Cl	5g
- Agar	15g
- Eau distillée	1l
- Ph 7	

**1. Gélose Mac Conkey:**

Composition:

- Gelysate	17g
- polypeptone	3g
- Lactose	10g
- Sels biliaries	5g
- Chlorure de sodium	5g
- Gelose	12,5g
- Rouge neutre	0,04
- Ph = 7,4	

Milieu pour l'antibiogramme :

**Mueller Hinton:**

Composition:

- Extrait de viande	3g
- Hydrolysate acide de caséine	17,5g
- Amidon	1,5g
- Agar	16g
- Eau distillée	1l
- Ph 7,3	

**Annexe II**

Tableau de lecture des Valeurs critiques des diamètres 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

**Annexe III**Tableau de lecture des Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité "Souche *E. coli* ATCC 25922".

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)
Ampicilline	10µg	16-22
Amoxicilline + acide clavulanique	20/10 µg	19-25
Acide nalidixique	30 µg	15-20
Bacitracine	*	*
Ceftiofur	30 µg	26-31
Cefalexine	30 µg	*
Colistine	10 µg	11-15
Chloramphénicol	30 µg	21-27
Erythromycine	15 µg	/
Enrofloxacin	5 µg	32-40
Furanes	300 µg	20-25
Fluméquine	30 µg	21-25
Gentamycine	10 µg	19-26
Neomycine	30 µg	17-23
Oxacilline	1 µg	*

Pénicilline	10 UI	/
Streptomycine	/	/
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	23-29
Tétracyclines	30 µg	18-25
Tilmicosine	/	/
Vancomycine	30 µg	/

Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS (2005).

#### Annexe IV: Table de lecture de la galerie API 20 E

Tests	Substrats	Réaction / Enzymes	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phényl-galactoside	β-galactosidase	Incolore	Jaune (1)
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge / Orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge / Orangé (2)
CIT	Citrate de sodium (3)	Utilisation du citrate	Vert pâle / Jaune	Bleu vert / Vert (4)
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Incolore / Gris	Dépôt noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge / Orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Perchlorure de fer / Immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	Kovacs / 2 minutes	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / 10 minutes	
			Incolore	Rosé / Rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non-diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre	Cytochrome oxydase	Incolore	Violet
NO <sub>3</sub> - NO <sub>2</sub>	Tube GLU	Production NO <sub>2</sub>	NIT 1 + NIT 2 / 2-3 minutes	
			Jaune	Rouge
		Production NO <sub>3</sub>	Zn	
			Rouge	Gris / Jaune
MOB	Etat Frais	Mobilité	Immobile	Mobile
MAC	Mac Conkey	Culture	Absence	Présence
OF	Hugh et Leifson	Fermentation sous huile	Vert	Jaune
		Oxydation à l'air	Vert	Jaune

- (1) Une très légère couleur jaune est également positive.
- (2) Lecture dans la cupule (zone aérobie)
- (3) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.

**Annexe V:** Logiciel d'identification des germes par la méthode API 20 E V4.1 avec profil numérique.

API 20 E V4.1

ONPG ADH LDG ODC CIT H<sub>2</sub>S URE TDA IND VP GEL GLU MAN INO SOR RHA SAC MEL AMY ARA OX

5 5 4 4 5 7 2

1 2 4 1 2 4

NO<sub>2</sub> N<sub>2</sub> MOB MeC OF-O OF-F

REFERENCE DATE  
18/06/15

COMMENTAIRE

**TRES BONNE IDENTIFICATION**

Galerie	API 20 E V4.1
Profil	5544572
Note(s)	

Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre			
<i>Escherichia coli</i> 1	99.2	0.63	H <sub>2</sub> S	1%		

Taxon suivant	% ID	T	Test(s) à l'encontre							
<i>Salmonella choleraesuis</i> ssp <i>arizonae</i>	0.6	0.19	ADH	75%	CIT	75%	IND	1%	SAC	1%

**Annexe VI :**



Hépatomégalie colibacillaire

**Annexe VII:**

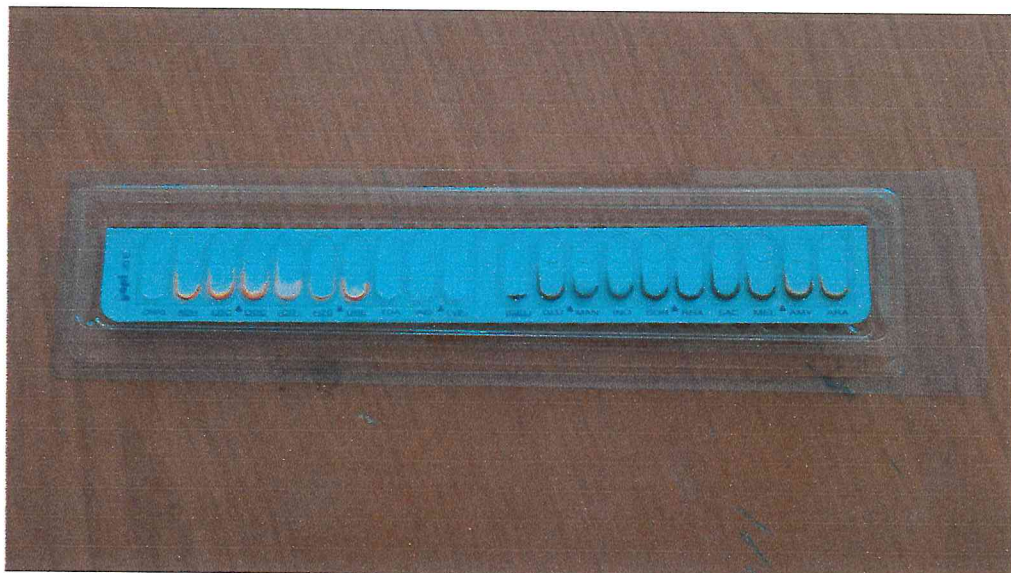


Colonies d'*E. coli* sur Hecktoen après 24h d'incubation à 37°C.  
Les colonies sont rondes, saumon à aspect lisse.



Colonies d'*E. coli* sur gélose Mac-Conkey après incubation de 24h à 37°C.  
Les colonies sont roses (lactose +), rondes à aspect lisse.

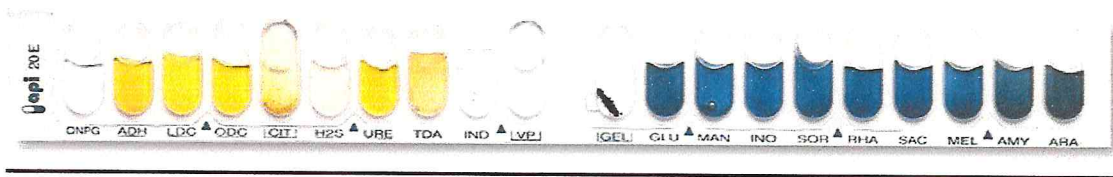
**Annexe VIII :**



Plaque ou galerie API 20 E

**Annexe IX :**

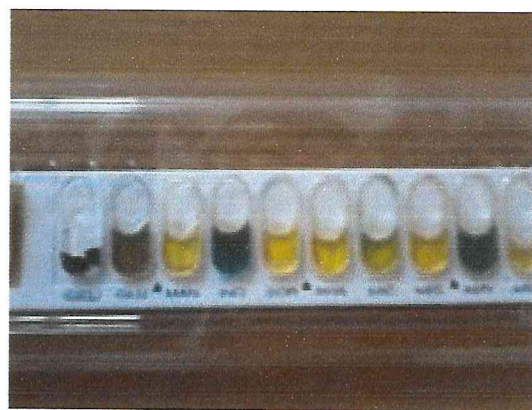
**Profil négatif**



**Profil positif**

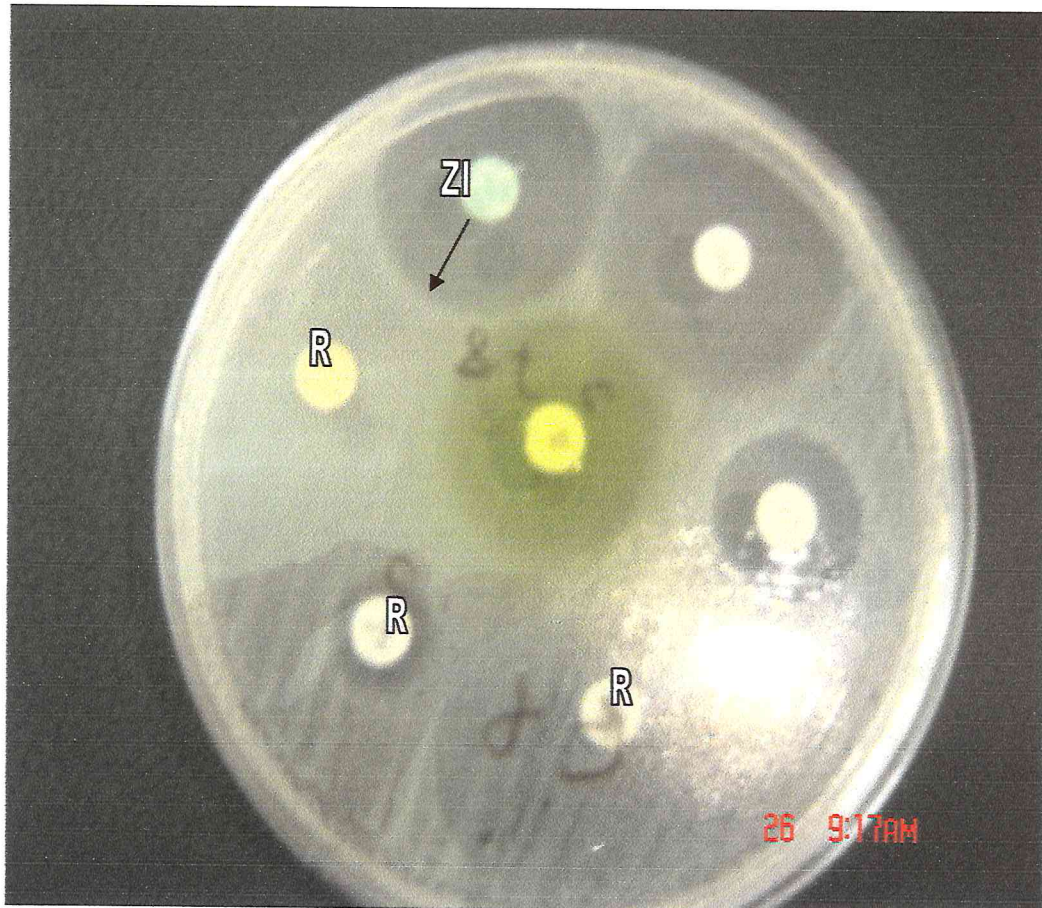


**Annexe X : Profil positif d'E. Coli sur plaque API 20 E**



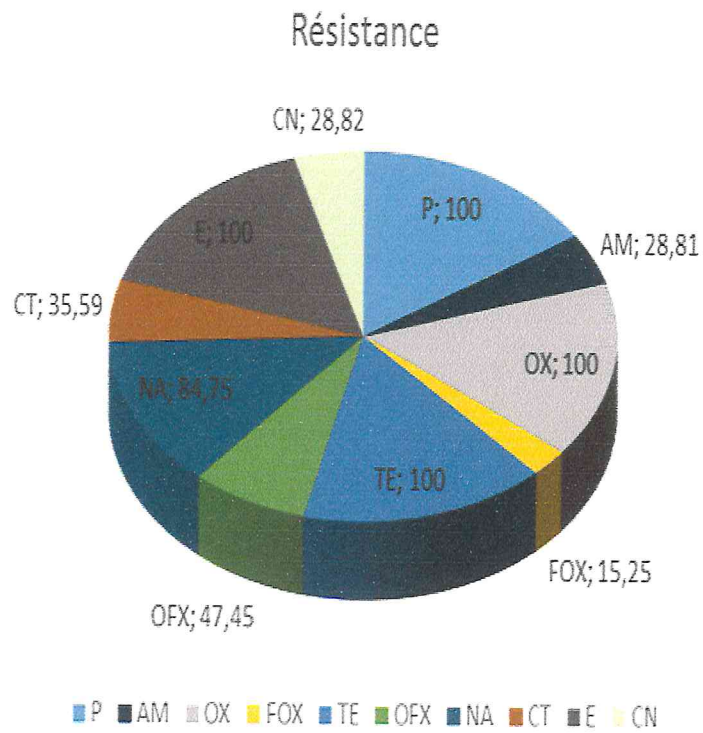
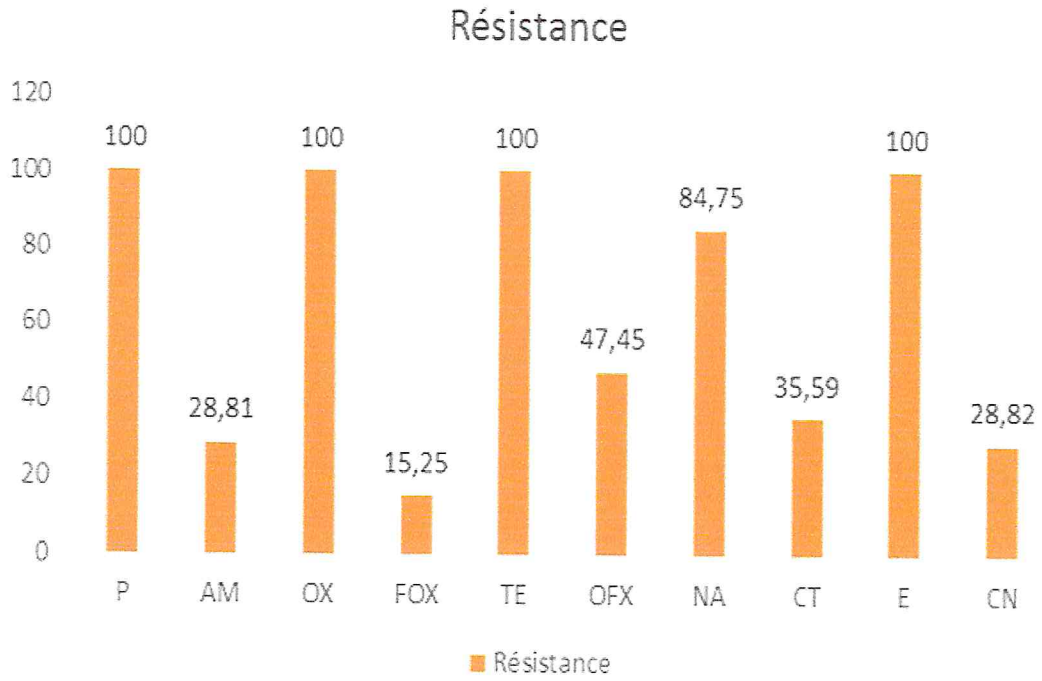


Annexe XI :



Antibiogramme après incubation 18-24h à 37°C.  
Présence de résistance pour 3 antibiotiques  
R: résistant; ZI : zone d'inhibition

**Annexe XII :** Histogramme et pourcentage de résistance aux antibiotiques



**Annexe XIII :** Histogramme et pourcentage de sensibilité aux antibiotiques

