

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**  
**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET**  
**INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES**



**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de docteur  
vétérinaire**

**THEME :**

**Diagnostic bactériologique et Antibiogramme de  
certaines pathologies aviaires**

**Présenté par :**

M. DANA ABDELKADER  
M. DJELLOUL DAOUADJI ILYES

**Encadré par :**

**Dr. BOUMEZRAG ASSIA Mr.**

**Année universitaire : 2018 – 2019**



# Remerciements

## Remerciements

*Nous tenons à remercier vivement notre encadreur, Dr. BOUMEZRAG ASSIA pour les orientations qu'elle n'a pas manquées de nous prodiguer tout au long de la réalisation de ce travail. Nous avons particulièrement été impressionnés par ses qualités scientifiques et humaines. Puissent ces lignes être l'expression de notre plus profonde reconnaissance.*

*Nos remerciements chaleureux s'adressent aussi à Mademoiselle AIT NAAMAN KARIMA pour son aide précieuse dans la réalisation du travail de laboratoire.*

*Nos profondes gratitudes vont aussi :*

*Aux membres de jury qui nous ont fait un grand honneur en acceptant d'évaluer de ce travail.*

*Aux vétérinaires praticiens de la wilaya de Tissemsilet qui nous ont beaucoup aidés dans la réalisation des prélèvements*

*A tous les enseignants et travailleurs de l'institut des sciences vétérinaires de l'Université Ibn khaldoun de Tiaret.*

*Et enfin à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*MERCI*



DEDICACES



*A ceux qui ont fait de moi ce que je suis  
et qui sont toujours présents pour me soutenir  
à tout moment.*

*A mes parents ♥ ⚔ ♥*

*A mes frères ma soeur en témoignage de  
leur amour et de leurs encouragements  
continus.*

*A tous mes amis et mon binôme  
ABDELKADER ..... Que dieu les garde.*

DJELLOUL DAOUADJI ILYES



DEDICACES



*A ceux qui ont fait de moi ce que je suis  
et qui sont toujours présents pour me soutenir  
à tout moment.*

*A mes parents ♥ ⚭ ♥*

*A mes frères ma soeur en témoignage de  
leur amour et de leurs encouragements  
continus.*

*A tous mes amis et mon binôme  
ILYES ..... Que dieu les garde.*

DANA ABDELKADER



## SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations.....	i
Liste des figures.....	ii
Liste des annexes.....	iii
INTRODUCTION.....	1
<b>PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
I.1. MYCOPLASMOSE AVIAIRE.....	2
I. 1.1. ETIOLOGI .....	2
I.1.2.PATHOGÉNIE.....	3
I.1. 3.ÉPIDÉMIOLOGIE.....	3
I.1.4. SYMPTOMES ET LESIONS.....	4
I.1.4. 1. Mycoplasma gallisepticum.....	4
I. 1.4. 2. Mycoplasma synoviae.....	5
I.1.4. 3. Mycoplasma meleagridis.....	6
I. 1. 4. 4. Mycoplasma iowae.....	7
I.1.5.DIAGNOSTIC.....	7
I.1.6.TRAITEMENT ET CONTRÔLE.....	8
I.2. COLIBACILLOSE.....	10
I.2.1.ÉTIOLOGIE.....	10
I.2.3.PATHOGENIE.....	12
I.2.4.ÉPIDÉMIOLOGIE.....	13
I.2.4.1. Facteurs de susceptibilité de l'hôte.....	14
I.2.5. SYMPTÔMES ET LÉSIONS .....	14
I.2.5. 1. Omphalite colibacillaire/infection du sac vitellin.....	15
I.2.5. 2. Cellulite colibacillaire.....	16
I.2.5. 3. Syndrome de la tête enflée.....	18
I.2.5. 4. Maladie diarrhéique.....	18
I.2.5. 5. Colibacillose vénérienne.....	18
I.2.5. 6. Salpingite/péritonite/salpingopéritonite colibacillaires.....	19
I.2.5. 7. Orchite/épididymite/orchi-épididymite colibacillaires.....	19
I.2.5. 8. Colisepticémie.....	20

I.2.5.9. Colisepticémie d'origine respiratoire.....	20
I. 2. 5. 10. Colisepticémie d'origine entérique.....	21
I. 2. 5. 11. Septicémie hémorragique.....	21
I. 2. 5. 12. Colisepticémie néonatale.....	21
I. 2. 5. 13. Coli septicémie des poules pondeuses et des dindes reproductrices.....	22
I. 2. 5. 14. Septicémie colibacillaire du canard.....	22
I. 2. 6. DIAGNOSTIC.....	23
I. 2. 7. Diagnostic différentiel.....	23
I.2. 7 .1. Septicémie aiguë.....	23
I.2.7.2. Infection du sac vitellin.....	24
I.2.8.TRAITEMENT.....	24
I.2.8.CONTRÔLE.....	24
I.2.8.1. Gestion de l'élevage.....	24
I.2.8.2. Vaccination.....	25

## **DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE**

### **MATERIEL ET METHODES**

II. 1. Objectifs du travail.....	26
II.2. Lieu et durée de l'étude.....	26
II. 3. Matériel.....	26
II.4. Méthodes.....	27
II. 4. 1. Prélèvement.....	28
II. 4. 2. Isolement.....	28
II.4.3. Identification des bactéries.....	28
II.4.3.1. Examen macroscopique .....	28
II.4.3.2. Examen microscopique.....	28
II. 4. 3. 2. 1. Préparation du frottis bactérien.....	28
II. 4. 3. 2. 2. Coloration de Gram.....	28
II. 4. 3. 3. Identification biochimique par galerie API20E .....	29
II.4.3.3.1. Préparation de la galerie.....	29
II. 4. 3. 3. 2. Préparation de l'inoculum.....	29
II. 4. 3. 3. 3. Inoculation de la galerie .....	29
II. 4. 3. 3. 4. Lecture de la galerie.....	30
II.4.3.3.5. Détermination du profil numérique.....	30

II.4.3. Antibiogramme.....	31
II.4.3. 1. Méthode de diffusion (antibiogramme standard) .....	31

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

III.1. Données générales.....	32
III .2. Données anatomo-cliniques.....	32
III. 3. Diagnostic bactériologique.....	32
III. 3. 1. Examen macroscopique.....	32
III. 3. 2. Examen microscopique.....	33
III. 3. 3. Identification biochimique par galerie API 20E.....	33
III.4. Antibiogramme.....	34
Conclusion.....	37
Références bibliographiques.....	38
Annexes	

## LISTE DES ABREVIATIONS

*APEC: Avian Pathogenic E. coli*

ARL : Agglutination Rapide sur Lame

*E. coli : Escherichia coli*

*EHEC : Escherichia coli entéro-hémorragique*

*EIEC : Escherichia coli entéro-invasive*

*ETEC : Escherichia coli Enterotoxinogène.*

IHA : Inhibition de l'hémagglutination

*M. gallisepticum : Mycoplasme gallisepticum.*

*M. iowae : Mycoplasme iowae*

*M. meleagridis : Mycoplasme meleagridis*

*M. synoviae : Mycoplasme synoviae.*

MRC : Maladie Respiratoire Chronique

nm : nanomètre.

PCR : Réaction de Polymérisation en chaîne.

S: sensible

R : résistante

I : intermédiaire

ND: non déterminé.

## LISTE DE FIGURES

<b>Figure 01.</b> Péricardite, périhépatite et aérosacculite .....	6
<b>Figure 02.</b> Bursite sternale avec ampoule du bréchet et accumulation d'un exsudat. Atteinte des coussinets plantaires.....	6
<b>Figure 03.</b> Mode de transmission d' <i>Escherichia coli</i> dans les troupeaux de volailles de chair...	12
<b>Figure 04.</b> Cellulite colibacillaire.....	17
<b>Figure 05.</b> Organigramme du protocole expérimental.....	27
<b>Figure 06.</b> Aspect des colonies obtenues sur la gélose Hektoen.....	32
<b>Figure 07.</b> Observation microscopique de coccobacilles à gram négatif .....	33
<b>Figure 08.</b> Répartition des bactéries isolées selon leur fréquence.....	33
<b>Figure 09.</b> Taux de sensibilité et de résistance des souches d' <i>Escherichia coli</i> isolées dans chaque organe.....	34
<b>Figure 10.</b> Pourcentage de résistance et de sensibilité des souches d' <i>E. coli</i> isolées vis-à-vis des antibiotiques testés.....	34
<b>Figure 11.</b> Effet des antibiotiques sur les souches d' <i>Escherichia coli</i> .....	35

## **LISTE DES ANNEXES**

**Annexe 01.** Composition des principaux milieux de culture utilisés.

**Annexe 02.** Données générales des cas de poulets de chair étudiés

**Annexe 03.** Tableau de lecture de la galerie API20E

**Annexe 04.** Profil biochimique d'*Escherichia coli* sur galerie API20E

**Annexe 05.** Table de lecture de l'antibiogramme

**Annexe 06.** Résultats de l'antibiogramme

# INTRODUCTION

---

L'intensification des productions avicoles et la densité importante des animaux exposent ces derniers à des risques sanitaires incessants représentés principalement par des infections virales et bactériennes.

Parmi ces dernières, la colibacillose aviaire est prédominante, elle est à point de départ respiratoire et souvent secondaire à une infection virale ou mycoplasmique. Elle se traduit par des lésions fibrineuses des séreuses ; péricardite et périhépatite ; et conduit par la suite à une septicémie mortelle.

L'incidence de cette maladie a augmenté considérablement durant ces dernières années et cette augmentation est imputable au développement des méthodes d'élevage intensif dans tous les secteurs avicoles.

L'importance économique de la colibacillose aviaire est considérable en raison des pertes liées à la mortalité élevée chez les poulets par colisepticémie. Ces pertes sont très importantes et nécessitent une thérapie ou une prophylaxie efficace.

Cependant, le non recours au laboratoire et l'antibiothérapie probabiliste et abusive ont entraîné l'émergence de souches bactériennes multi-résistantes et ceci représente sans doute un enjeu de santé publique majeur en raison du transfert de ces résistances à l'homme via la chaîne alimentaire.

Dans ce contexte, la présente étude vise d'une part à montrer l'importance du diagnostic bactériologique comme moyen de confirmation d'une colibacillose suspectée cliniquement ou par examen nécropsique et d'autre part à démontrer l'intérêt de l'antibiogramme dans l'antibiothérapie ciblée et efficace.

Ce manuscrit est structuré en deux parties :

1. Une synthèse bibliographique sur les pathologies d'origine bactérienne les plus fréquentes sur le terrain à savoir les mycoplasmoses et la colibacillose aviaires.
2. Une étude expérimentale portant en premier lieu sur l'identification des bactéries isolées à partir de certains organes prélevés chez des cas suspects de colibacillose aviaire et en second lieu sur l'étude de la sensibilité de ces bactéries aux antibiotiques à usage courant en aviculture.

**I.1. MYCOPLASMOSE AVIAIRE**

De nombreuses espèces mycoplasmiques peuvent infecter les oiseaux, mais seuls *Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*, *M. meleagridis* et *M. iowae* sont réputés pathogènes chez la poule ou chez la dinde et peuvent entraîner des pertes économiques du fait d'un retard de croissance, des saisies liées aux lésions d'aérosacculite ou de synovite, d'une baisse de production des œufs commercialisables et de la diminution de l'éclosabilité.

L'incidence des infections mycoplasmiques est favorisée par l'intensification de la production avicole (**Bradbury & Kleven, 2008**).

**I. 1.1. ETIOLOGIE**

Les mycoplasmoses sont causées par des bactéries du genre *Mycoplasma*. Ce sont des bactéries de petite taille (environ 200 nm) sans paroi, limitées par une simple membrane cellulaire et possédant un génome réduit (environ 600 à 1 300 kpb). De ce fait, leur capacité de biosynthèse est limitée d'où la nécessité de milieux de culture complexes comprenant du sérum, une source de cholestérol et d'acides gras (**Bradbury & Kleven, 2008**).

La Maladie Respiratoire Chronique (MRC) de la poule résulte d'une infection par *M. gallisepticum* souvent associée à d'autres agents infectieux, tels que des virus sauvages ou vaccinaux (virus de la maladie de Newcastle, *Coronavirus*, *Pneumovirus*, *etc.*) ou des bactéries (*Escherichia coli*, *Haemophilus*, *Pasteurella* spp., autres mycoplasmes, *etc.*) voire des parasites (*Aspergillus*, *etc.*). De même, le pouvoir pathogène de *M. Synoviae* est exacerbé lors d'une association avec des bactéries ou des virus à tropisme respiratoire ou articulaire (*Reovirus*, *etc.*).

Les mauvaises conditions d'ambiance (taux d'ammoniac excessif, poussières, humidité, ventilation mal réglée, *etc.*), les stress subis par les oiseaux (stress sociaux, manipulations, vaccinations, tri, débecquage, transfert, *etc.*), les carences alimentaires et le parasitisme peuvent également se révéler être des facteurs prédisposants ou aggravants (**Bradbury & Kleven, 2008**)

**I.1.2.PATHOGÉNIE**

Le pouvoir pathogène des mycoplasmes aviaires dépend de nombreux facteurs (hôte, espèce et souche mycoplasmique, *etc.*). Ainsi, par exemple, *M. iowae* est pathogène pour la dinde et non pour la poule et il existe des souches de *M. gallisepeticum* naturellement ou artificiellement peu pathogènes utilisées comme vaccins.

Les mycoplasmes des volailles présentent un tropisme pour l'appareil respiratoire, les articulations ou l'appareil génital notamment chez la dinde.

Des études ont permis de révéler la sophistication des mécanismes pathogènes mis en œuvre par ces bactéries. Celles-ci possèdent en effet des systèmes génétiques leur permettant de modifier rapidement la nature et la structure de leur surface membranaire: des antigènes membranaires sont susceptibles de varier dans leur expression (+/-), leurs caractéristiques (variation de taille) et l'accessibilité de leurs épitopes. Ces phénomènes peuvent être observés *in vitro* comme *in vivo*. Cette variabilité paraît être un mécanisme évolutif crucial, permettant au micro-organisme d'échapper aux réactions immunitaires de l'hôte et expliquant sa persistance. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

L'attachement des mycoplasmes aux cellules de l'hôte par l'intermédiaire d'adhésines, codées chez *M. gallisepticum* et *M. synoviae* par des gènes présents en de multiples copies, les phénomènes de ciliostase, de libération de toxines, de peroxydes ou de nucléases ainsi que la consommation de métabolites essentiels pour les cellules hôtes constituent leurs autres facteurs de virulence. Par ailleurs, certains mycoplasmes comme *M. gallisepticum* semblent parfois capables de pénétrer dans les cellules et d'y persister. Enfin, de nombreuses interactions positives ou négatives entre les mycoplasmes et les cellules du système immunitaire sont décrites et les lésions de mycoplasmoses résultent pour une grande partie de la réponse immunitaire ou inflammatoire de l'hôte **(Bradbury & Kleven, 2008).**

### I.1. 3.ÉPIDÉMIOLOGIE

Dans le monde avicole moderne, la majeure partie des troupeaux de sélection, voire de reproduction, sont le plus souvent indemnes de *M. gallisepticum* et *M. synoviae* mais les contaminations mycoplasmiques demeurent fréquentes dans les troupeaux de production, surtout s'ils sont situés dans des zones à forte densité d'élevage.

Généralement considérés comme des bactéries fragiles, les mycoplasmes aviaires peuvent néanmoins survivre plusieurs jours dans le milieu extérieur, notamment sur les plumes ou divers matériaux. Ainsi, *M. gallisepticum* est viable pendant 61 jours en milieu sec à 4°C, ou 5 jours dans l'eau de puits; *M. iowae* survit 6 jours sur des cheveux humains. Dans les élevages, le mode d'infection le plus fréquent pour *M. gallisepticum* et *M. synoviae* est la voie respiratoire. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

La transmission s'effectue principalement par contact direct entre les animaux malades ou porteurs latents et les animaux sensibles.

Une transmission indirecte par l'intermédiaire du personnel, des oiseaux sauvages, voire des insectes ou du matériel d'élevage est également possible. De plus, *M. gallisepticum* et *M. Synoviae* peuvent être transmis verticalement par l'intermédiaire de l'œuf, soit par la

contamination de l'embryon par la voie hématogène, soit du fait d'une contiguïté entre l'oviducte et les sacs aériens infectés. Le pourcentage d'œufs infectés reste limité mais permet probablement la diffusion de l'infection au niveau du couvoir puis des élevages.

Le taux de transmission verticale serait plus important dans les premières semaines de l'infection. La localisation de *M. gallisepticum* et *M. iowae* au niveau de l'appareil génital de la dinde permet une transmission vénérienne importante par l'intermédiaire de la semence infectée, lors des inséminations artificielles, ainsi qu'une transmission verticale régulière du fait de la contamination de l'oviducte. Le nombre d'œufs infectés semble moins élevé au début et à la fin de la période de ponte. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

La transmission horizontale est également possible soit par contact direct entre les oiseaux soit par le biais des équipes d'intervention (sexage, insémination). La vitesse de diffusion de l'infection dans l'élevage dépend de la densité d'élevage et de la taille du réservoir. Les facteurs environnementaux qui aggravent la maladie, tels que des taux élevés d'ammoniac ou des infections intercurrentes, augmentent probablement l'excrétion de mycoplasmes et donc la rapidité de la transmission. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

Dans certains cas, le développement de l'infection peut se révéler plus ou moins brutalement à la suite de divers stress (transferts, entrée en ponte, etc.). La diffusion de *M. synoviae* paraît généralement plus rapide que celle de *M. gallisepticum*. Néanmoins certaines souches de *M. gallisepticum* ou *M. synoviae* montrent une transmissibilité faible et le développement dans l'élevage de l'infection par ces souches est plus lent. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

#### I.1.4. SYMPTOMES ET LESIONS

##### I.1.4. 1. *Mycoplasma gallisepticum*

Seul ou associé à d'autres agents pathogènes, *M. gallisepticum* est l'agent de la MRC. Dans les conditions expérimentales, la période d'incubation varie de cinq à dix jours, mais dans les conditions naturelles, cette durée est parfois bien supérieure. Ainsi des oiseaux issus de reproducteurs infectés (surtout si ces derniers ou leurs œufs ont été traités par des antibiotiques) peuvent ne présenter des symptômes et/ou une séroconversion qu'après plusieurs mois.

Les signes cliniques comprennent un coryza, des éternuements, un jetage, une toux, des râles trachéaux et une dyspnée. Les oiseaux les plus atteints restent prostrés, le bec ouvert. La croissance est ralentie, le taux de ponte diminue (environ 10-15 œufs en moins par poule) et le pourcentage d'œufs déclassés peut augmenter.

Chez le dindon, une sinusite infraorbitaire uni ou bilatérale peut être observée et empêche, dans les formes les plus graves, l'ouverture des yeux et donc la préhension de l'aliment. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

La morbidité est souvent élevée et la mortalité varie en fonction de l'âge des oiseaux et des surinfections. Aux premiers stades de l'infection, les lésions se limitent à une inflammation catarrhale des voies respiratoires et un aspect perlé ou un œdème des sacs aériens. Puis une inflammation fibrineuse des sacs aériens et parfois de différents organes internes (péritoine, capsule hépatique) peut être observée. Chez la dinde, les sinus sont emplis d'un abondant mucus séreux puis d'un matériel caséux. Les lésions de l'appareil respiratoire peuvent être sévères chez des oiseaux présentant peu de signes cliniques. Des lésions de pneumonie, de kératoconjonctivite, de ténosynovite, d'arthrite ou de salpingite ont parfois été rapportées.

#### **I.1.4. 2. *Mycoplasma synoviae***

Les premiers symptômes de l'infection par *M. synoviae* consistent en une pâleur de la crête, des retards de croissance et des articulations enflées, d'où la dénomination de synovite infectieuse. Les atteintes articulaires aiguës comprennent un œdème des membranes synoviales, des tissus périarticulaires et des gaines tendineuses. Un exsudat visqueux puis crémeux, voire caséux ou fibrino-purulent chez le dindon, est retrouvé dans les articulations des pattes, qui sont amyotrophiées, ainsi que, dans les formes les plus graves, au niveau du crâne et des vertèbres cervicales. Des ampoules de bréchet sont fréquemment observées.

Dans les formes chroniques, les articulations restent tuméfiées et les oiseaux répugnent à se déplacer. La morbidité avoisine 10% mais varie largement en fonction de la virulence des souches, entraînant parfois des saisies très importantes à l'abattoir.

L'infection de l'appareil respiratoire par *M. synoviae* est le plus souvent non apparente mais un grand nombre d'oiseaux sont porteurs. Lors de la maladie clinique, les symptômes et les lésions de l'appareil respiratoire sont similaires à ceux observés avec *M. gallisepticum* mais ils sont généralement moins graves. **(Bradbury & Kleven, 2008).**



**Figure 01.** Péricardite, péri hépatite et aérosacculite (*I Dinev - Ceva Santé animale*)



**Figure 02.** Bursite sternale avec ampoule du bréchet et accumulation d'un exsudat. Atteinte des coussinets plantaires (*I Dinev - Ceva Santé animale*)

### **I.1.4. 3. *Mycoplasma meleagridis***

Cette espèce infecte essentiellement la dinde et entraîne, lors d'infections congénitales, des aérosacculites caractérisées par un œdème et parfois un exsudat jaunâtre sur les sacs aériens thoraciques.

Ces lésions s'étendent ensuite aux sacs aériens cervicaux et abdominaux. L'infection du jeune peut rester subclinique ou entraîner des retards de croissance, des anomalies du

plumage et des déformations des vertèbres ou des os tarso-métatarsiens. Chez les oiseaux adultes, l'infection est souvent subclinique mais l'éclosabilité peut être réduite du fait de mortalités embryonnaires tardives.

Des synergies entre *M.meleagridis* et *M. iowae* ou *M. synoviae* ont été décrites et sont respectivement à l'origine d'aérosacculites ou de sinusites. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

#### **I. 1. 4. 4. *Mycoplasma iowae***

Dans les conditions naturelles, l'infection de la dinde par *M. iowae* se traduit par une réduction de l'éclosabilité d'environ 5% à 20% en raison d'une mortalité embryonnaire tardive (du 18ème au 24ème jour d'incubation).

Les embryons morts sont de petite taille, congestionnés et présentent un œdème de la tête et du cou, des dépôts d'urates à la surface du corps et au niveau des uretères, et une hépatite. L'infection expérimentale de dindonneaux âgés d'un jour entraîne des aérosacculites, des retards de croissance, des anomalies du plumage et des déformations des pattes (chondrodystrophies, courbures des os, ruptures des tendons fléchisseurs des doigts) **(Bradbury&Kleven,2008).**

#### **I.1.5.DIAGNOSTIC**

L'infection mycoplasémique pouvant rester subclinique ou entraîner des symptômes et des lésions peu spécifiques. Le dépistage ou le diagnostic d'une infection doit être effectué au laboratoire. La mise en évidence du germe peut être effectuée par la mise en culture de prélèvements effectués sur des animaux vivants (écouvillons de trachée, de la fente palatine, des sinus, des oviductes ou du cloaque, semence), sacrifiés ou morts (sinus, trachée, sacs aériens, poumons, *etc.*). Si des colonies d'aspect mycoplasémique apparaissent, elles peuvent, soit être identifiées à l'aide de techniques d'immunofluorescence ou immunoenzymatiques, soit être clonées et identifiées par détermination de caractères antigéniques (test d'inhibition de croissance par exemple), biochimiques ou génétiques. Les cultures doivent être conservées pendant au moins trois semaines avant d'être considérées comme négatives. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

Les méthodes d'amplification génique (PCR) permettent de détecter la présence de l'ADN des mycoplasmes de manière sensible et spécifique. Leur intérêt réside surtout dans la rapidité d'obtention des résultats et la possibilité de mettre en évidence des mycoplasmes sur des prélèvements contaminés par des bactéries ou porteurs de plusieurs espèces de

mycoplasmes ou provenant d'oiseaux traités par des antibiotiques, c'est-à-dire des échantillons difficilement analysables par culture.

Le dépistage des infections mycoplasmiques peut également être basé sur des méthodes sérologiques. Lors d'infections, des anticorps systémiques ou locaux sont produits, leur rôle protecteur restant limité. Les immunoglobulines (IgG) sont transmises au poussin par le biais du vitellus. Elles peuvent être détectées pendant les deux premières semaines de vie du poussin. La réponse immunitaire à médiation humorale vis-à-vis de *M. iowae* semble peu importante et il n'existe pas à l'heure actuelle de test sérologique fiable vis-à-vis de ce mycoplasme. L'agglutination rapide sur lame (ARL) est largement utilisée, en raison de sa simplicité et de son faible coût relatif. Le principal avantage de cette méthode est sa précocité car elle permet de détecter les IgM mais le manque de spécificité pose parfois des problèmes. Ainsi, par exemple, la présence de gènes et d'antigènes communs à plusieurs espèces mycoplasmiques, notamment entre *M. gallisepticum* et *M. synoviae* peut entraîner des réactions croisées gênant l'interprétation des résultats sérologiques. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

Différentes précautions dans la réalisation des prélèvements, la méthode d'analyse et l'interprétation des résultats sont préconisées. Dans le doute, de nouveaux prélèvements peuvent être réalisés et analysés après une quinzaine de jours ou d'autres analyses sérologiques telles que l'inhibition de l'hémagglutination (IHA) ou des tests immuno-enzymatiques peuvent être pratiquées. L'IHA est en effet plus spécifique que l'ARL mais détecte principalement les IgG d'apparition plus tardive. La difficulté de l'utilisation de l'IHA est liée à la préparation et à la conservation des antigènes. Les tests ELISA disponibles maintenant se montrent plus spécifiques que les premiers kits commercialisés. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

### I.1.6. TRAITEMENT ET CONTRÔLE

Les méthodes de contrôle des infections mycoplasmiques doivent tenir compte des particularités de ces micro-organismes: résistance relativement faible dans le milieu extérieur, persistance chez l'animal infecté, transmission horizontale et surtout verticale. Selon qu'il s'agisse de troupeaux de sélection, de multiplication ou de production, les buts visés sont soit l'éradication de l'infection, soit la simple réduction du niveau de l'infection afin de limiter les conséquences économiques de la mycoplasmosé.

Les programmes d'éradication doivent inclure le très strict respect des règles classiques de prophylaxie sanitaire (désinfection, vide sanitaire, isolement et protection de

l'élevage, hygiène, pratique de la bande unique, *etc.*) ainsi que des programmes appropriés de vaccination ou de prévention des autres affections bactériennes et virales.

Des contrôles réguliers et portant sur des nombres suffisants de sujets sont effectués afin de s'assurer de l'absence de contamination, les lots infectés devant être rapidement éliminés. Dans certains pays, des procédures officielles décrivent ces dispositions visant au contrôle des infections mycoplasmiques, dans le cadre de l'amélioration de l'état sanitaire des troupeaux ou d'échanges commerciaux entre pays. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

Lors de la contamination d'un troupeau de reproducteurs, si l'élimination du lot n'est pas économiquement réalisable, il peut être envisagé de réduire la transmission verticale à l'aide d'antibiotiques tels que des macrolides (érythromycine, spiramycine, josamycine, lincomycine, tylosine, *etc.*), des tétracyclines (tétracycline, chlortétracycline, oxytétracycline, doxycycline), la spectinomycine ou la tiamuline. Les traitements peuvent être administrés aux adultes ou aux poussins, par injection ou par voie orale, dans l'aliment ou l'eau de boisson. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

Le traitement des œufs à incuber par trempage, voire par injection d'antibiotiques a également été décrit, mais les effets de ces méthodes doivent être parfaitement évalués, notamment en termes de sélection de bactéries antibio-résistantes. Une autre technique, consistant à chauffer les œufs à incuber à une température de 46-47°C pendant environ 12 heures, permet de limiter l'infection mais réduit l'éclosabilité. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

Toutes ces procédures permettent de diminuer (et non d'éliminer totalement) le niveau de contamination. Leur opportunité doit donc être évaluée. Dans les troupeaux de production, les traitements anti-infectieux sont administrés soit lors d'une suspicion de l'infection du lot lors des périodes critiques d'élevage, soit lors de l'apparition des premiers symptômes. Les molécules utilisées doivent permettre d'obtenir des concentrations suffisantes au niveau des organes et des tissus de l'appareil respiratoire, articulaire ou génital et être, au besoin, également efficaces vis-à-vis des bactéries de surinfection. Les conséquences économiques des infections mycoplasmiques et la difficulté de les contrôler, notamment dans les élevages à bandes multiples, ont suscité un grand intérêt pour les possibilités d'immunisation. **(Bradbury & Kleven, 2008).**

Ainsi, plusieurs types de vaccins ont été développés pour *M.gallisepticum*. D'une part, des vaccins inactivés sont commercialisés dans certains pays. Ils induisent une réponse immunitaire à médiation humorale mais n'empêchent pas l'infection des oiseaux. Une réaction inflammatoire locale est observée au lieu d'injection. D'autre part, des vaccins vivants ont été

développés. La souche vaccinale *M.gallisepticum* F, de virulence modérée, administrée selon différentes voies peut diffuser dans l'élevage; son pouvoir pathogène résiduel doit être souligné et limite son utilisation. Les souches vaccinales *M.gallisepticum* ts11 et *M.gallisepticum* 6/85, moins virulentes, peuvent également être employées; elles diffusent peu et n'induisent qu'une faible réponse humorale. La possibilité de caractériser les souches vaccinales a permis de démontrer que, dans des conditions expérimentales, la vaccination des oiseaux à l'aide de certaines de ces souches vaccinales s'oppose à l'infection par une souche sauvage et des cycles successifs de vaccination permettraient alors d'éliminer éventuellement la souche sauvage virulente de l'élevage. Quoi qu'il en soit, ces vaccins inactivés ou vivants ne doivent être utilisés qu'en dernier recours, lorsque les mesures traditionnelles de prophylaxie sanitaire ne permettent pas de contrôler l'infection. La dernière catégorie de vaccins arrivés sur le marché sont les vaccins vectorisés qui offrent une bonne protection, ne permettent pas la dissémination des mycoplasmes puisqu'ils ne contiennent que des fractions du génome et non pas des mycoplasmes entiers (ce qui permet aussi d'utiliser des antibiotiques si cela s'avère nécessaire) (Stipkovits & Kempf, 1996).

## I.2. COLIBACILLOSE

La colibacillose aviaire comprend un certain nombre de différentes infections localisées et systémiques causées par un *Escherichia coli* pathogène (*Avian pathogenic E. coli* ou *APEC*). La maladie a une distribution mondiale et toutes les espèces de volailles sont sensibles à l'infection. L'*APEC* profite souvent d'une altération des défenses de l'hôte du fait de co-infections et/ou d'une exposition à de mauvaises conditions environnementales.

Dans l'ensemble, les nombreuses formes de la colibacillose sont les maladies bactériennes les plus fréquemment rapportées dans les élevages avicoles et elles sont responsables de pertes économiques importantes. La plupart des *APEC* affectent seulement les oiseaux et ne semblent pas zoonotiques. Toutefois, l'infection naturelle par *E. coli* O157:H7, important agent pathogène zoonotique, a été observée chez des poulets et des dindes. Les pigeons peuvent être porteurs de shigatoxines produites par des *E. coli* (*Shigatoxin producing E. coli* ou *STEC*) pouvant affecter l'homme.

Les *APEC* peuvent également partager plusieurs facteurs de virulence avec des *E. coli* pathogènes extra-intestinaux humains, suggérant qu'ils peuvent être impliqués dans certains cas de maladies humaines (Nolan et al., 1994)

### I.2.1.ÉTIOLOGIE

La colibacillose est causée principalement par *Escherichia coli*. Moins fréquents, *E. fergusonii* et *E. albertii*, qui peuvent être différenciés d'*E. coli* par des tests biochimiques

et génomiques, peuvent également causer une maladie chez les oiseaux et les humains. Le premier affecte les poussins âgés d'un jour et peut causer une maladie mortelle chez les autruches adultes; le second peut causer de graves problèmes intestinaux.

*Escherichia coli* est un bacille à Gram-négatif, non sporulé, qui se cultive facilement en milieu aérobie ou anaérobie à des températures variant de 18 à 44°C et à un pH compris entre 4,5 et 9. Les colonies caractéristiques se développent dans les 24 heures à 37°C sur milieu gélosé MacConkey et à l'éosine-bleu de méthylène en raison de sa capacité à fermenter le lactose. Cette bactérie ne survit pas typiquement à 60°C pendant 30 minutes ou à 70°C pendant 2 minutes. Elle survit à la congélation et peut persister pendant des périodes prolongées à des températures froides (par exemple, plusieurs semaines à 4°C). Le soleil, la lumière ultraviolette et une température élevée, permettent de réduire considérablement la contamination par des coliformes de l'eau et des surfaces solides. Le dessèchement est également efficace. Différents acides organiques (acides citrique, tartrique et salicylique) réduisent le nombre des *E. coli* dans la litière. Bien que le lavage suivi d'un séchage puisse détruire *E. coli*, cette bactérie peut développer une résistance à une large gamme de métaux lourds et de produits désinfectants, notamment le formaldéhyde, le peroxyde d'hydrogène et des composés d'ammonium quaternaire. (Nolan et al., 1994) .

Les sérotypes d'*Escherichia coli* sont identifiés par trois antigènes: O (antigène somatique, endotoxine), K (antigène capsulaire) et H (antigène flagellaire). Actuellement, il y a 180 antigènes O, 60 H et 80 K. Il existe d'autres antigènes, tels que l'antigène F (pili, fimbriae) impliqué dans l'attachement aux cellules.

En ce qui concerne l'antigène O, les APEC sont variés et un grand nombre ne sont pas typables en utilisant des antisérums standard. (Nolan et al., 1994)

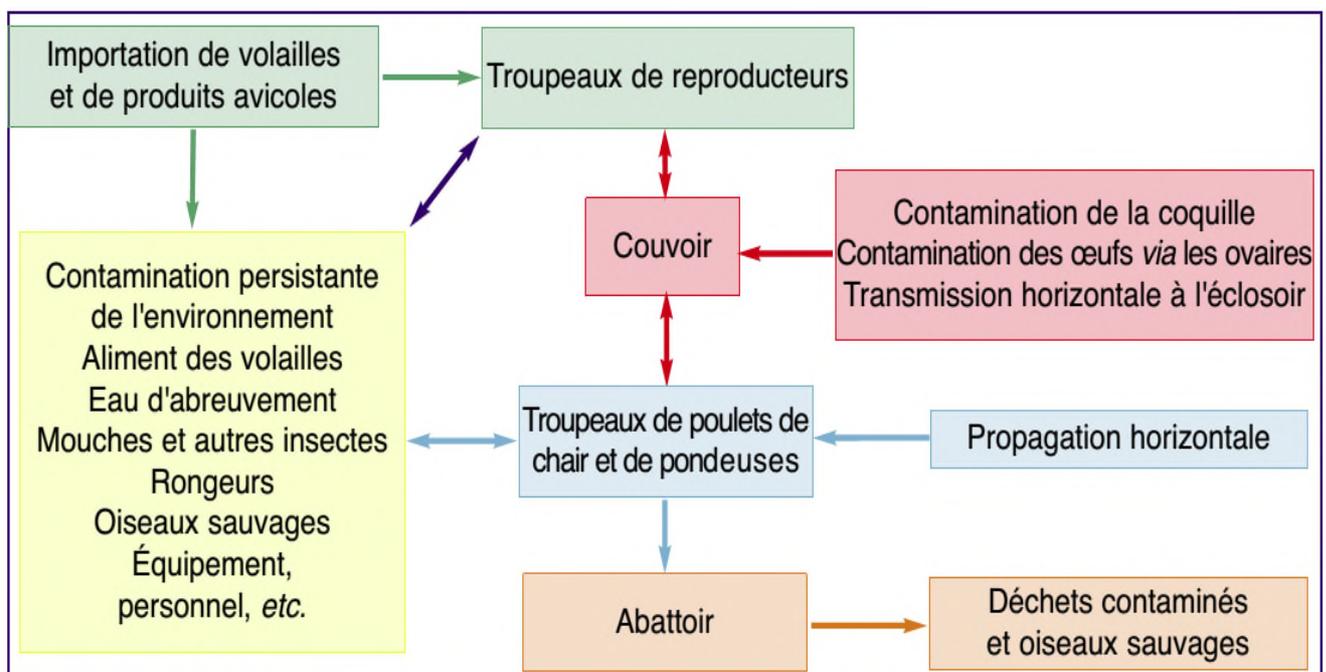
La réponse immunitaire est principalement dirigée contre les antigènes O. La capsule glucidique O1 inhibe la phagocytose et certains sérotypes spécifiques sont systématiquement associés à une maladie (par exemple, le sérotype O111 causant mortalité, septicémie, et polysérosite chez les poules pondeuses).

La caractérisation des souches d'*E. coli* comprend le phénotypage, le sérotypage, le profil de résistance aux antibiotiques, le pouvoir toxigène, les tests de virulence chez les embryons ou les poussins, la capacité d'attachement aux cellules, l'hémagglutination, la

lysogénie (lysotypage), le profil plasmidique, le typage phylogénétique, et le géotypage de la virulence (Nolan et al., 1994).

Les tests de létalité sur les embryons et les poussins peuvent différencier les APEC des souches commensales d'*Escherichia coli*. Il n'existe pas un facteur de virulence particulier permettant de différencier un APEC (*Avian pathogenic E. coli*) d'une souche commensale; cependant, les tests concernant plusieurs facteurs de virulence sont souvent utiles. (Nolan et al., 1994).

Bien que la colibacillose soit généralement une maladie secondaire (c'est-à-dire survenant après une affection primaire telle qu'une infection due à *Mycoplasma gallisepticum*, au virus de la bronchite infectieuse ou au virus de la bursite infectieuse), il est de plus en plus évident qu'un APEC peut parfois être un agent primaire (Nolan et al., 1994).



**Figure 03.** Mode de transmission d'*Escherichia coli* dans les troupeaux de poulets de chair (Modifié de Lister & Barrow, 2008).

### I.2.3.PATHOGENIE

*Escherichia coli* est habituellement présent dans l'intestin des volailles et de la plupart des autres animaux. Sa présence dans le tractus intestinal inférieur est généralement bénéfique; même les souches pathogènes peuvent aider à la croissance et au développement de l'oiseau. Il a été aussi démontré que le colibacille peut inhiber la colonisation de l'intestin par d'autres bactéries, notamment *Salmonella* (Nolan et al., 1994).

*Escherichia coli* présente un ensemble de facteurs d'adhésion (fimbriae et non-fimbriae) qui lui permettent à l'organisme de s'attacher aux récepteurs des entérocytes et de coloniser la muqueuse intestinale. Ces facteurs d'adhésion disparaissent souvent lorsque les bactéries sont dans le flux de sang car ils favorisent la phagocytose. Lorsque les souches virulentes traversent la muqueuse ou pénètrent dans l'organisme par une lésion cutanée, une réponse inflammatoire aiguë se développe en quelques heures. L'endotoxémie conduit à une diminution rapide de la consommation des aliments et de l'efficacité alimentaire, ce qui limite le gain de poids corporel. Les os sont également affectés avec une diminution de la résistance aux fractures. L'infection se traduit par de la mortalité, une augmentation de volume du foie et du calcium ionisé plasmatique, et une réponse immunitaire avec la formation d'anticorps. L'augmentation de la perméabilité vasculaire se traduit par l'infiltration d'un exsudat séro-protéique dans les tissus provoquant un œdème des membranes séreuses (Nolan et al., 1994).

L'invasion colibacillaire par l'intermédiaire d'une lésion cutanée se traduit par une cellulite. Le fibrinogène plasmatique est converti en fibrine par la thrombine lorsqu'il entre en contact avec des tissus à l'extérieur du compartiment vasculaire. L'endotoxine est fortement chimiotactique pour les hétérophiles, qui, une fois mélangés à la fibrine, forment un exsudat fibrinohétérophilique qui devient progressivement caséux, ce dépôt étant reconnaissable à l'examen macroscopique (Nolan et al., 1994).

A la phase terminale, chez les oiseaux survivants, ce processus inflammatoire devient granulomateux et les tissus atteints sont finalement remplacés par un tissu cicatriciel fibreux. Les souches très virulentes d'APEC ne produisent pas de lésions importantes car la mort survient avant qu'elles ne puissent se développer. Souvent, les seuls changements observés sont un œdème des membranes séreuses et une rate hypertrophiée et congestionnée. En revanche, les souches moins virulentes produisent généralement des lésions caséuses ("semblables à du fromage blanc") étendues (Nolan et al., 1994).

#### **I.2.4.ÉPIDÉMIOLOGIE**

*Escherichia coli* est rencontré dans le monde entier et toutes les espèces de volailles sont sensibles à la colibacillose. La transmission par les œufs est fréquente et il en résulte une infection de l'embryon et une mortalité précoce des poussins. La bactérie pénètre dans l'œuf à travers les pores de la coquille suite à la contamination fécale de la surface de l'œuf (Nolan et al., 1994).

La propagation du colibacille est rapide après l'éclosion. Le sperme contaminé utilisé pour l'insémination artificielle des dindes représente un autre mode de contamination. La transmission horizontale s'effectue par contact direct ou indirect entre les oiseaux dans un troupeau. Les sources courantes de coliformes pathogènes comprennent l'aliment, les excréments des rongeurs, les oiseaux sauvages et l'eau de puits (Nolan et al., 1994).

Les larves et les adultes des ténébrions (*Alphitobius diaperinus*) et les mouches domestiques adultes (*Musca domestica*) sont d'excellents vecteurs mécaniques d'*E. coli*. La période d'incubation varie selon la maladie provoquée par *E. coli*. Dans les conditions du terrain, la colisepticémie apparaît habituellement 5 à 7 jours après une infection causée par des agents primaires (par exemple, les virus de la bronchite infectieuse, de la maladie de Newcastle, de la maladie de Gumboro, de l'entérite hémorragique (Nolan et al., 1994).

#### I.2.4.1. Facteurs de susceptibilité de l'hôte

La susceptibilité de l'hôte est un déterminant important dans l'expression de la maladie. Les oiseaux en bonne santé avec un système immunitaire normal résistent généralement à une infection par *E. coli*, y compris les souches les plus virulentes. Les lésions se développent et la maladie clinique apparaît lorsque les barrières des muqueuses et de la peau sont endommagées, le système immunitaire compromis, ou l'exposition particulièrement importante (Nolan et al., 1994).

Parmi les facteurs importants augmentant la susceptibilité, citons un stress environnemental et les lésions occasionnées à la muqueuse respiratoire par d'autres agents infectieux ou par des taux élevés d'ammoniac ou de poussières dans le bâtiment d'élevage. (Nolan et al., 1994).

#### I.2.5. SYMPTÔMES ET LÉSIONS

Les signes cliniques (y compris les taux de morbidité et de mortalité) varient considérablement en fonction de la maladie ou des lésions produites par *E. coli*. Il n'y a pas d'âge de prédisposition, bien que les jeunes oiseaux soient fréquemment touchés par une maladie cliniquement plus sévère (Nolan et al., 1994).

Les signes cliniques peuvent être absents lorsque la lésion est bénigne ou localisée mais aussi quand les oiseaux meurent d'une forme suraiguë. Lors d'une septicémie bactérienne chez les poulets de chair, le premier signe d'alerte est souvent une augmentation marginale de la mortalité pendant la nuit.

Chez les poules pondeuses en cage et les reproductrices de la filière «poulets de chair», la salpingite/péritonite colibacillaire est une cause fréquente de mortalité. Les oiseaux atteints d'une colisepticémie peuvent devenir léthargiques et arrêter de manger et de boire.

Les oiseaux sévèrement touchés deviennent moribonds et sans réaction. La déshydratation est facilement visible sur la peau des pattes et les doigts apparaissent sombres et secs. Les jeunes oiseaux déshydratés présentent des plis sombres importants en relief de la peau principalement le long des côtés du jarret et, parfois, des doigts noirâtres (Nolan et al., 1994).

Le degré de réduction de la consommation d'eau indique la gravité de la maladie. Les cas chroniques sont souvent rabougris et chétifs. Lorsque les articulations, les tendons, et/ou les os sont touchés, les oiseaux présentent une boiterie voire une impossibilité de déplacement si l'une des deux jambes ou la colonne vertébrale est touchée (Nolan et al., 1994).

#### **I.2.5. 1. Omphalite colibacillaire/infection du sac vitellin**

L'inflammation de l'ombilic (omphalite) des poussins venant d'éclore conduit souvent à une infection concomitante du sac vitellin adjacent (infection du sac vitellin). Le manque d'hygiène dans l'éclosoir et la contamination de la coquille sont d'importantes sources d'infection. De faibles nombres d'*E. coli* peuvent être souvent isolés à partir de sacs vitellins normaux (Nolan et al., 1994).

De temps en temps, une plus grande contamination se produit *in ovo* quand les poules sont atteintes d'une oophorite ou d'une salpingite. La translocation des bactéries de l'intestin de l'oiseau ou de la circulation sanguine peut également conduire à l'infection du sac vitellin. Si la souche d'*E. coli* n'est pas très virulente, les embryons et les jeunes poussins peuvent vivre, mais certains présenteront une rétention du sac vitellin. Cependant, l'infection du sac vitellin peut entraîner la mort de l'embryon et, avec certaines souches très virulentes, comme le sérotype O1a:K1:H7, tous les embryons exposés comme les poussins nouvellement éclos ne survivent pas (Nolan et al., 1994).

Les oiseaux nouvellement éclos infectés survivants seront une source de colibacilles pour les autres poussins du couvoir. Si l'environnement de l'éclosoir est trop sec, on peut observer une incidence élevée d'omphalites et d'infections du sac vitellin, surtout au cours de la première semaine de vie. Un sac vitellin infecté n'est pas absorbé; par conséquent, il est distendu, souvent malodorant, de couleur et de consistance anormales (liquide, floconneux, coagulé). Les oiseaux affectés sont souvent déshydratés, avec un retard de croissance, une région cloacale souillée par des fientes pâteuses et une vésicule biliaire

hypertrophiée. La région cutanée autour de l'ombilic est souvent humide et rouge (inflammation); ce qui explique pourquoi la maladie est souvent appelée maladie du poussin ou du dindonneau «détrempé» (*mushy*). Bien que *E. coli* soit l'agent pathogène le plus fréquent associé à une omphalite, d'autres bactéries peuvent également causer cette affection, comme *Bacillus cereus*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp. et *Enterococcus* spp.. A l'autopsie, la consistance anormale du jaune est l'indication d'une infection du sac vitellin (Nolan et al., 1994).

### I.2.5. 2. Cellulite colibacillaire

La cellulite colibacillaire, principalement observée chez le poulet, se traduit par la formation de plaques caractérisées par un exsudat sérosanguin à caséux dans les tissus sous-cutanés le plus souvent situés sur l'abdomen ou entre les cuisses et la ligne médiane.

La cellulite chez les dindes est une affection différente, provoquée par *Clostridium*. Bien que les performances de croissance puissent être affectées, les signes cliniques sont généralement absents et les lésions sont visibles lors de la préparation suivant le plumage révélant une peau abdominale jaune épaissie. Cette maladie est apparue au milieu des années 80 provoquant une augmentation des saisies et un déclassement à l'abattoir.

Bien que d'autres bactéries puissent être présentes, dans plus de 90% des cas, *E. coli* est isolé en culture pure. Les souches d' *E. coli* causant la cellulite colibacillaire sont des mêmes sérogroupes que ceux trouvés dans les autres formes de colibacillose. Les facteurs environnementaux et d'élevage jouent un rôle important dans l'apparition de la maladie. Les lignées de poulets de chair lourds, à croissance rapide, sont plus susceptibles d'être griffés, ce qui les prédispose à une cellulite colibacillaire. L'agressivité ou de la nervosité de certaines lignées génétiques de poulets peuvent être également un facteur favorisant (Nolan et al., 1994).

D'autres facteurs de risque comprennent un mauvais emplumement, un surpeuplement, la nature de la litière (la paille est associée à la cellulite colibacillaire par comparaison avec les copeaux ou la sciure de bois), la température ambiante et une humidité relative élevées, l'aliment (incidence plus élevée avec une alimentation végétarienne par comparaison avec des aliments contenant des produits d'origine animale), l'âge (poulets âgés), le sexe (masculin), et des problèmes musculo-squelettiques (par exemple, une déformation des pattes en *valgus-varus* conduisant à une plus grande possibilité de contact entre la peau et les colibacilles présents dans la litière) (Nolan et al., 1994).

La supplémentation en vitamine E ou en vitamine A est considérée comme protectrice, mais des doses élevées de vitamine E ne sont pas efficaces. Une durée plus longue du vide sanitaire (temps écoulé entre l'enlèvement d'un troupeau et le placement d'une nouvelle bande) réduit la prévalence de la cellulite. Bien que l'origine de l'éclosoir ait été initialement considérée comme une source possible d'infection, cette hypothèse a été largement démentie au fil des ans. Parfois, une colibacillose systémique (colisepticémie) se produit en même temps que la cellulite. Cependant on ne sait pas si l'infection systémique entraîne des lésions cutanées localisées de la peau ou, au contraire, résulte de ces lésions cutanées. Le traitement et l'élimination des cellulites colibacillaires ne sont pas possibles. Toutefois, en agissant sur les facteurs de risque connus, on peut réduire considérablement la prévalence de la maladie. Comme les lésions peuvent être présentes dans les 12 heures suivant une griffure chez un oiseau, il faut enquêter sur les conditions d'enlèvement et de transport vers l'abattoir lorsque des lésions aiguës sont présentes (Nolan *et al.*, 1994).

Sur l'exploitation, la densité d'élevage, les espaces entre les mangeoires et les abreuvoirs, le type et la qualité de la litière, la restriction alimentaire et les programmes d'éclairage représentent des facteurs clés dans l'enquête. Essentiellement, il est utile d'examiner tous les facteurs de risque qui pourraient entraîner des griffures de la peau et une contamination accrue dans les bâtiments (Nolan *et al.*, 1994).



**Figure 04.** Cellulite colibacillaire (*I Dinev - Ceva Santé animale*)

### I.2.5. 3. Syndrome de la tête enflée

Il s'agit d'une forme de cellulite aiguë à subaiguë assez rare affectant les tissus sous-cutanés de la région périorbitaire, donnant un aspect gonflé à la face des poulets, des dindes et des pintades. Elle résulte généralement d'une infection des voies respiratoires supérieures d'origine virale (par exemple, le virus de la bronchite infectieuse) et elle est plus sévère dans les troupeaux exposés à des taux élevés d'ammoniac dans l'air (Nolan *et al.*, 1994).

### I.2.5. 4. Maladie diarrhéique

Contrairement aux mammifères, l'entérite colibacillaire primaire est rare chez les volailles. Quelques souches sont capables de s'attacher et d'abraser l'épithélium intestinal provoquant une maladie entérique. Ils sont appelés *Attaching and effacing E. coli* ou *AEEC*.

Selon les facteurs de virulence possédés par les isolats *AEEC*, ceux-ci sont également classés soit comme entérotoxigènes (*Enterotoxigenic Escherichia coli* ou *ETEC*), entérohémorragiques (*Enterohemorrhagic Escherichia coli* ou *EHEC*), entéropathogènes (*Enteropathogenic E. coli* ou *EPEC*), ou entéroinvasifs (*Enteroinvasive E. coli* ou *EIEC*).

Les infections naturelles avec les *AEEC* ont été observées chez les poulets, les dindons, les pigeons, les canards et d'autres espèces aviaires. Les facteurs prédisposants à l'infection par un *AEEC* comprennent les maladies immunosuppressives telles que la maladie de Gumboro chez le poulet et l'adénovirose du pigeon. Lorsque les signes cliniques sont présents, les oiseaux présentent une diarrhée et sont déshydratés (Nolan *et al.*, 1994).

Chez les dindonneaux, la co-infection expérimentale d'un *EPEC* avec le coronavirus de la dinde (CVD) provoque une forte mortalité et une réduction marquée du gain de poids quotidien; mais quand les dindonneaux sont infectés par l'*EPEC* seul, le gain de poids et la mortalité sont similaires à ceux des oiseaux témoins. Certaines souches d'*E.coli* ont été associées au syndrome entéritique mortel du dindonneau. Les intestins et les cæcums des oiseaux touchés sont pâles et distendus avec du liquide et des plages de mucus. Des lésions caractéristiques des villosités intestinales recouvertes de colibacilles adhérents aux entérocytes sont observées dans les intestins. Les cæcums sont le plus souvent atteints, mais des lésions de l'intestin grêle sont observées dans les cas graves (Nolan *et al.*, 1994).

### I.2.5. 5. Colibacillose vénérienne

La colibacillose vénérienne est observée chez les dindes reproductrices après leur première insémination. La vaginite est aiguë et souvent mortelle.

Un prolapsus cloacal et intestinal, une péritonite, une rétention de l'œuf, ou une ponte abdominale accompagnent souvent la vaginite. La muqueuse des poules affectées est épaissie, ulcérée et recouverte d'un dépôt membraneux caséo-nécrotique. L'oviducte en région supérieure est normal. Il s'ensuit une augmentation de la mortalité ou de l'élimination des oiseaux. La production des œufs est également affectée, étant réduite avec un plus grand nombre de petits œufs (Nolan et al., 1994).

#### **I.2.5. 6. Salpingite/péritonite/salpingopéritonite colibacillaires**

Les infections de l'oviducte s'étendant au péritoine représentent des causes fréquentes de mortalité sporadique et d'une diminution de la production des œufs chez les poules pondeuses, chez les dindes ou poules reproductrices (dindes et poules) ainsi que chez les canes et les oies femelles. Une masse ou des masses fermes d'un exsudat caséux sont retrouvées dans l'oviducte, obstruant et distendant fortement cet organe. Une inflammation généralisée et une exsudation des surfaces péritonéales sont observées dans la péritonite colibacillaire. En revanche, la péritonite liée à une ponte abdominale est habituellement caractérisée par une légère inflammation diffuse liée à la présence de l'ovule libre dans la cavité abdominale (Nolan et al., 1994).

La salpingite a pour origine des *E. coli* présents dans le cloaque (infection ascendante). Certains agents primaires (par exemple, le virus de la bronchite infectieuse, les mycoplasmes) peuvent prédisposer les poules à cette infection. La rétention de l'œuf ou toute autre cause d'obstruction de l'oviducte est un autre facteur prédisposant.

La section de la masse présente dans l'oviducte révèle souvent la présence d'un œuf ancien en développement entouré par de multiples couches d'exsudat. Les poules lourdes sont plus susceptibles de développer la maladie. La salpingopéritonite se produit lorsque les colibacilles se propagent à partir de l'oviducte vers l'abdomen. Chez les oiseaux immatures, l'oviducte est infecté du fait de l'extension d'une aérosacculite impliquant le sac aérien abdominal gauche (Nolan et al., 1994).

#### **I.2.5. 7. Orchite/épididymite/orchi-épididymite colibacillaires**

Cette maladie rare chez les coqs correspond à une infection ascendante colibacillaire équivalente à la salpingite des oiseaux femelles. Les testicules et l'épididyme affectés sont œdématisés, fermes, de forme irrégulière, et peuvent présenter des adhérences avec les tissus adjacents; la nécrose est extensive. Les lésions sont généralement unilatérales. *E. coli* est facilement isolé à partir des tissus affectés (Nolan et al., 1994).

### I.2.5. 8. Colisepticémie

La pression d'infection (quantité de bactéries en contact direct avec l'oiseau), les facteurs de virulence, et les mécanismes de défense de l'oiseau interagissent pour déterminer la durée et la gravité de la maladie. La colisepticémie peut être aiguë, subaiguë avec une polysérosite, ou chronique avec une inflammation granulomateuse.

Même si les lésions macroscopiques sont caractéristiques d'une colisepticémie, d'autres bactéries peuvent parfois produire également des lésions septicémiques. C'est pourquoi il est nécessaire d'isoler et d'identifier *E. coli* dans les tissus affectés pour confirmer un diagnostic de colisepticémie (Nolan et al., 1994).

Selon la chronicité de la maladie, la bourse de Fabricius peut être atrophiée ou enflammée en raison de colisepticémie. L'atrophie de la bourse peut être uniquement causée par *E. coli* sans la participation d'un agent primaire comme le virus de la bursite infectieuse. Une péricardite est fréquemment observée et peut être associée à une myocardite. Le péricarde devient trouble et œdémateux du fait de l'inflammation exsudative. Au début, l'exsudat dans le péricarde est fluide, mais il devient rapidement caséux et de couleur jaune à blanchâtre. Le péricarde adhère alors à l'épicarde (Nolan et al., 1994).

Avec le temps, le péricarde adhérent enflammé subit une organisation (fibrose), qui se traduit par une péricardite constrictive et une insuffisance cardiaque. D'autres lésions courantes sont observées telles une périhépatite fibrineuse (sérosite hépatique) et une rate très hypertrophiée et congestionnée. Les tissus présentent souvent une coloration verdâtre à gris-verdâtre après un certain temps lors de l'autopsie. Les signes cliniques associés à la colisepticémie varient en fonction du type d'oiseau, de son âge, et de la voie de pénétration d'*E. coli* dans la circulation sanguine (Nolan et al., 1994).

### I. 2. 5. 9. Colisepticémie d'origine respiratoire

C'est le type le plus fréquent de colisepticémie chez les poulets, les canards et les dindes. Les agents primaires (par exemple, les souches virales vaccinales ou du terrain de la bronchite infectieuse et la maladie de Newcastle, les mycoplasmes, le métapneumovirus aviaire chez la dinde, la poussière, l'ammoniac, etc.) altèrent la muqueuse respiratoire, permettant l'entrée d'*E. coli* dans le flux sanguin (Nolan et al., 1994).

Il s'ensuit une aérosacculite de gravité variable, et la lésion est généralement de longue durée. Cette maladie est appelée maladie respiratoire chronique ou MRC lorsque *Mycoplasma gallisepticum* est l'agent à l'origine de la lésion primaire. Les sacs aériens infectés sont

épaissis, opaques, et peuvent contenir un exsudat caséux. D'autres lésions respiratoires sont une pneumonie (plus fréquente chez les dindes), une pleurésie (plus fréquente chez les poulets), et une pleuropneumonie. En plus de l'aérosacculite et des lésions pulmonaires, les oiseaux touchés présentent généralement une péritonite et d'autres lésions liées à la septicémie bactérienne (Nolan et al., 1994).

#### **I. 2. 5. 10. Colisepticémie d'origine entérique**

Les colisepticémies d'origine entérique sont principalement observées chez les dindes à la suite d'une entérite hémorragique (EH) virale. Le virus de l'EH est immunodépresseur et provoque une altération de la muqueuse intestinale. *E. coli* traverse la barrière de la muqueuse intestinale et passe dans le sang, provoquant ainsi rapidement des lésions aiguës de péricardite, de périhépatite, etc. Du fait de cette évolution aiguë, les oiseaux atteints sont d'apparence normale et sont souvent trouvés morts avec un jabot rempli (Nolan et al., 1994).

#### **I. 2. 5. 11. Septicémie hémorragique**

Cette affection, rencontrée chez les dindes, provoque des troubles circulatoires généralisés. On observe un œdème pulmonaire et une hémorragie ainsi qu'une hépatomégalie, une splénomégalie, et une hypertrophie des reins. Des lésions nécrotiques sont notées dans le foie et la rate (Nolan et al., 1994).

#### **I. 2. 5. 12. Colisepticémie néonatale**

Les poussins et les dindonneaux sont atteints dans les deux jours suivant leur éclosion. La mortalité peut être plus élevée que la normale dans les premiers jours de vie. Les lésions précoces sont une congestion des poumons, un œdème des membranes séreuses et une splénomégalie. Une rate hypertrophiée et/ou hémorragique peut être la seule lésion observée chez certains oiseaux. Après la mort, le proventricule et les poumons s'assombrissent progressivement en raison de l'action d'*E. coli* sur le fer libéré par l'hémoglobine. Quelques jours plus tard, on peut noter d'autres lésions (péricardite, pleurésie, aérosacculite et péritonite). Comme les survivants restent rabougris, leur réforme s'avère nécessaire et peut atteindre 2 à 5% du troupeau. Cette forme de colisepticémie n'est pas contagieuse (Nolan et al., 1994).

**I. 2. 5. 13. Colisepticémie des poules pondeuses et des dindes reproductrices**

La colibacillose aiguë est une affection émergente chez les poules pondeuses et les dindes reproductrices. Bien que la colisepticémie ne soit pas aussi fréquente que chez les oiseaux plus jeunes, les poules et les dindes adultes peuvent être affectées.

La plupart des cas surviennent au début de la ponte. La maladie peut se propager entre les troupeaux sur la même ferme. Une fois contaminé, le bâtiment ayant abrité un troupeau infecté est le site d'épidémies répétées. La mort survient généralement subitement; cependant, des signes de dépression peuvent être observés chez certains oiseaux avant la mort (**Nolan et al., 1994**).

La mortalité peut atteindre 10% sur plusieurs semaines.

**I. 2. 5. 14. Septicémie colibacillaire du canard**

La septicémie colibacillaire des canards est caractérisée par une péricardite, une périhépatite, et une aérosacculite. Le foie et la rate sont hypertrophiés et sombres. Une odeur particulière à l'autopsie a été rapportée. On retrouve le plus fréquemment le sérotype O<sub>78</sub> chez les oiseaux atteints (**Nolan et al., 1994**).

**➤ Autres lésions**

Les oiseaux survivant à une colisepticémie développent souvent des lésions chroniques dont une ostéomyélite, une arthrite, une ténosynovite et une spondylarthrite. Lors de boiterie, il faut toujours rechercher l'ostéomyélite, en particulier par l'examen de l'extrémité proximale des tibiotarses. Chez les jeunes poulets, la localisation d'*E. coli* dans le système nerveux central provoque une méningite et une encéphalite. Les oiseaux atteints présentent des signes neurologiques en agitant leurs pattes et/ou présentant un torticolis (**Nolan et al., 1994**).

Une panophtalmie est parfois observée; généralement unilatérale, elle est caractérisée par des lésions inflammatoires sévères des tissus internes de l'œil. Le complexe de l'ostéomyélite du dindon est une affection touchant les os, les articulations et les tissus mous péri-articulaires. Lors de lésion hépatique, le foie est hypertrophié et verdâtre. Cette coloration est une indication pour les inspecteurs des abattoirs sur la présence possible d'une ostéomyélite (**Nolan et al., 1994**).

La coligranulomatose (maladie de Hjarre) est une forme sporadique de la colibacillose qui affecte les poulets, les dindes et les cailles. On observe de multiples granulomes sur le foie, le proventricule, le ventricule, l'intestin grêle, les cæcums et le mésentère. La rate n'est pas affectée. En de rares occasions, la majorité des oiseaux peut être affectée dans un troupeau (Nolan et al., 1994).

### I. 2. 6. DIAGNOSTIC

Le diagnostic repose sur l'isolement et l'identification d' *E. coli* à partir des lésions. Plusieurs milieux peuvent être utilisés pour cultiver *E. coli* (éosine bleu de méthylène, Mac Conkey, tergitol-7 et géloses non inhibitrices). Comme *E. coli* est un hôte normal de l'intestin, il est important d'éviter une contamination fécale lors du prélèvement des tissus infectés. Dans les cas de septicémie, la moelle osseuse et l'encéphale sont de bons sites de prélèvement car ils ne sont pas affectés par une propagation post-mortem d'origine intestinale.

Un écouvillonnage du sac péricardique, le foie et la rate sont d'excellents prélèvements pour l'isolement bactérien à partir d'oiseaux réformés ou morts depuis peu, présentant des lésions subaiguës (péricardite, périhépatite, aérosacculite, etc.) (Nolan et al., 1994).

La détermination des facteurs de virulence et des caractéristiques génétiques des isolats sont utiles pour les enquêtes épidémiologiques. Six gènes de virulence associés à des souches pathogènes ont été identifiés dans la majorité des isolats des APEC: les gènes associés au fer (*sitA*, *iron* et *iutA*), les gènes relatifs aux toxines/bactériocines (*hlyF*), les protectines (*Iss*), et le gène *etsA*. La résistance au complément est un indicateur important de virulence. Comme ces six gènes de virulence sont rarement retrouvés dans les souches bactériennes commensales, une PCR multiplex a été développée pour distinguer ces souches commensales des isolats pathogènes (Nolan et al., 1994).

### I. 2. 7. Diagnostic différentiel

Plusieurs bactéries causent des lésions similaires à celles observées dans la colisepticémie. Il est important de garder à l'esprit que *E. coli* peut également être aussi présent en même temps que les agents pathogènes énumérés ci-dessous:

#### I.2. 7.1. Septicémie aiguë

*Pasteurella*, *Ornithobacterium*, *Riemerella*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, etc. Péricardite et péritonite: *Chlamydia* (rare), *Pasteurella multocida*, *Streptococcus* spp. et *Enterococcus* spp. Chez les canards, *Riemerella anatipestifer*

peut également provoquer une aérosacculite. *Aérosacculite*: *Pasteurella*, *Mycoplasma* spp et *Chlamydia* (Nolan et al., 1994).

#### **I.2.7.2. Infection du sac vitellin:**

Espèces des genres *Aerobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Clostridium*, etc. *Granulomes hépatiques*: Bactéries anaérobies des genres *Eubacterium* et *Bacteroides* (Nolan et al., 1994).

### **I.2.8. TRAITEMENT**

Les préoccupations concernant la résistance aux antibiotiques ont changé la façon dont la colibacillose est traitée dans l'industrie avicole. Il est préférable d'effectuer un test de sensibilité afin de sélectionner l'antibiotique approprié. Cependant, lors du traitement de la colibacillose, la précocité du traitement est essentielle.

Les vétérinaires du terrain prélèvent généralement des échantillons pour les tests de sensibilité mais débiteront simultanément un traitement basé sur leur expérience (par exemple, l'apramycine, la néomycine) (Nolan et al., 1994).

La multirésistance est courante avec les *APEC* (par exemple, les tétracyclines, les sulfamides, l'ampicilline et la streptomycine). Les anticoccidiens, comme la monensine, ont des propriétés antimicrobiennes qui aident au contrôle des coliformes. Afin de minimiser l'utilisation des antibiotiques, des efforts ont été consacrés à l'élaboration de stratégies alternatives comprenant des prébiotiques, des probiotiques (par exemple, *Bacillus* spp.), des enzymes digestives, des acidifiants, des vitamines, des activateurs du système immunitaire, des anti-inflammatoires (Nolan et al., 1994).

### **I.2.8. CONTRÔLE**

#### **I.2.8.1. Gestion de l'élevage**

La détermination et la correction des facteurs de risque sont essentielles pour le contrôle de la colibacillose. Celui-ci commence par l'obtention d'oiseaux âgés d'un jour provenant de troupeaux indemnes de maladie (par exemple, indemnes de *Mycoplasma* spp.) et les couvoirs sains (ne mettant pas en place des œufs présentant une contamination de la coquille ou pondus sur la litière).

Ensuite, il faut faire attention à la gestion du troupeau (par exemple, contrôle de la température de l'air ambiant et de la qualité de la litière); accès à un aliment de qualité (les

granulés sont associés à une incidence plus faible) et aux abreuvoirs. L'eau est souvent négligée en tant que source d'APEC. L'assainissement de l'eau potable est particulièrement important et l'emploi de systèmes de pipettes pour l'abreuvement a permis de réduire considérablement l'incidence de la colibacillose (Nolan et al., 1994).

Une ventilation adéquate minimise l'altération des voies respiratoires causée par l'ammoniac ou les poussières et réduit l'exposition aux APEC. Une litière humide est un excellent environnement dans lequel *E. coli* peut se développer. La prévalence et la gravité des dermatites du coussinet plantaire à l'abattoir sont de bons indicateurs de la qualité de la litière et de l'air au cours de l'engraissement. Les nuisibles peuvent aussi être une source importante d'*E. coli* pathogènes. En plus de l'amélioration des conditions environnementales et de gestion, les produits commerciaux d'exclusion compétitive peuvent être utilisés pour prévenir l'installation des APEC dans l'intestin des jeunes volailles.

L'inoculation *in ovo* de *Lactobacillus reuteri* permettant d'ensemencer l'intestin des poussins âgés d'un jour a été un succès dans la prévention des APEC. Les mesures strictes de biosécurité sont également essentielles pour prévenir l'exposition à des agents primaires. Une vaccination efficace contre certains de ces agents peut être déterminante en fonction de la région où le troupeau est élevé (Nolan et al., 1994).

### I.2.8.2. Vaccination

Différents vaccins sont disponibles dans le commerce, mais peu se sont avérés très efficaces sur le terrain. Les vaccins inactivés spécifiques à certains sérotypes, tels que O2:K1 et O78:K80, sont efficaces et leur utilisation dans chez les reproductrices a permis de protéger passivement la descendance contre les souches homologues. Les vaccins vivants ou recombinants sont également efficaces contre des souches spécifiques. En Europe, l'immunité maternelle peut être obtenue par la vaccination des poulets de chair avec un vaccin commercial contenant l'antigène fimbrial F11 (*PapA*) et l'antigène flagellaire (FT).

Des vaccins moléculaires, par exemple, l'immunisation des poulets avec la protéine de surface Iss communes aux APEC, pourraient fournir une protection croisée entre les différents sérotypes (Nolan et al., 1994).

## II. 1. Objectifs du travail

Les principaux objectifs de la présente étude se résument dans les volets suivants :

- Démontrer l'importance du diagnostic de laboratoire pour l'isolement et l'identification des souches d'*Escherichia coli* après un diagnostic clinique de suspicion de colibacillose aviaire.
- Evaluer la sensibilité des souches isolées vis-à-vis des antibiotiques utilisés dans le traitement de la colibacillose aviaire.

## II.2. Lieu et durée de l'étude

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique de Microbiologie de l'Institut des Science Vétérinaires pendant une période s'étalant de Janvier à Mai 2019.

## II. 3. Matériel

Le matériel et les produits nécessaires à la réalisation de ce travail sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

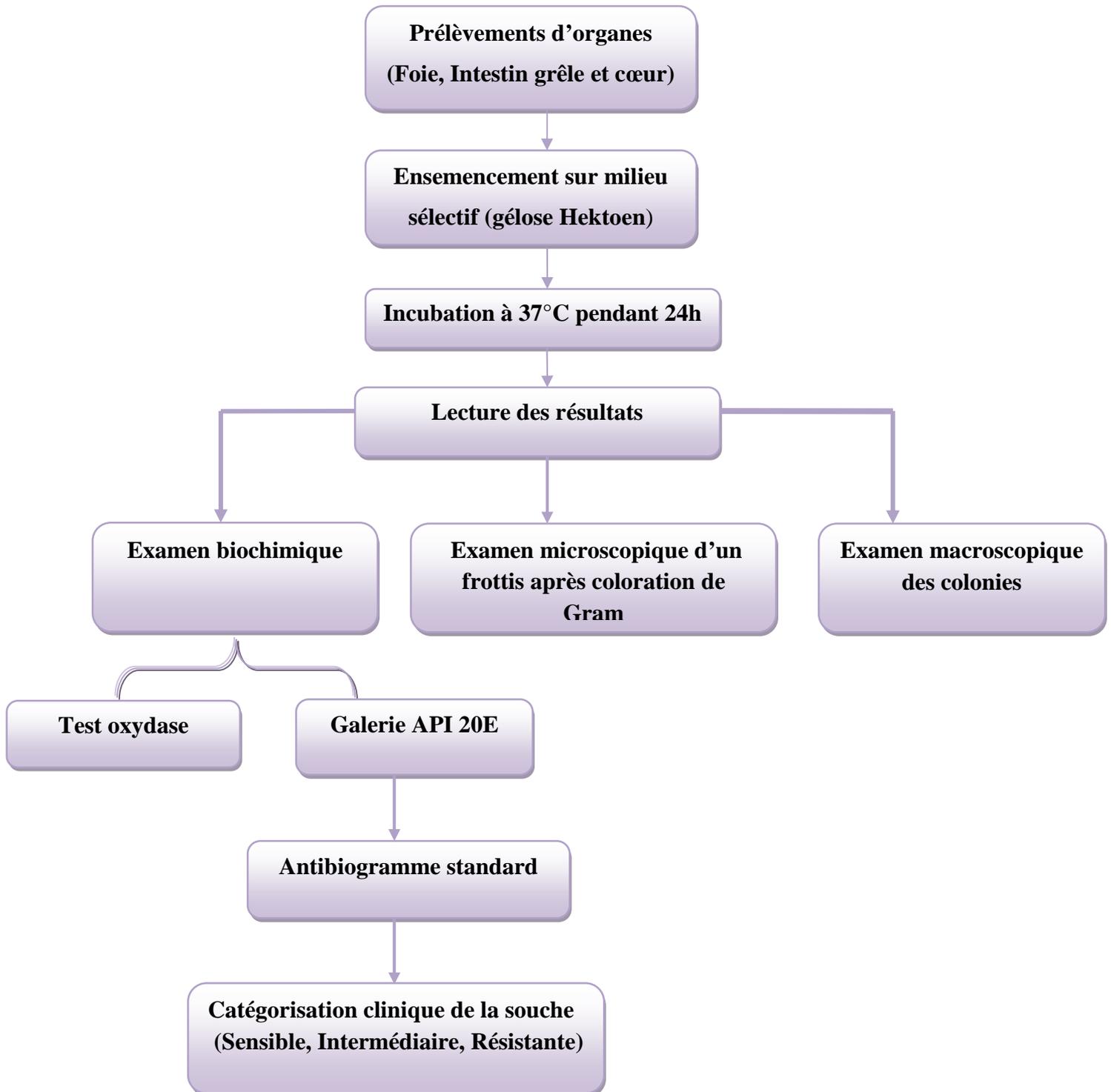
**Tableau 01** : Matériel de laboratoire et produits utilisés

Appareillage, verreries et autres	Réactifs	Milieux de culture
- Etuve	-Ethanol 95°	-Milieu de Hektoen
- Balance de précision	-Lugol	- Milieu Mueller-Hinton
- Spectrophotomètre	-fuschine basique	
- Microscope optique	-violet de gentiane.	
- Vortex	- peroxyde d'hydrogène	
- cuves spectrophotométriques	-Eau physiologique (0.85%)	
- tubes à essai	-disques d'oxydase	
- Boîtes de pétri	-disques d'antibiotiques	
- béchers	- Réactif de Kovacs	
- Epprouvettes graduées.	-Réactif TDA	
- pipettes pasteur	-Réactif VP1 et VP2	
- micropipettes.	-Huile à immersion	
- lames et lamelles		
- anses de platine		
- ciseaux		
- Pincés métalliques		

**N.B** : la composition des milieux de culture est donnée dans l'**Annexe 01**

## II.4. Méthodes

La démarche expérimentale est illustrée dans l'organigramme ci-dessous :



**Figure 05 :** Organigramme du protocole expérimental

**II. 4. 1. Prélèvement**

Les prélèvements d'organes (foie, Intestin grêle et cœur) ont été réalisés par des vétérinaires du secteur privé sur des cadavres de poulets de chair provenant de différents élevages de la wilaya de Tissemsilt (**Annexe 02**).

**II. 4. 2. Isolement**

La surface de chaque organe est stérilisée par flambage puis un écouvillon est introduit en profondeur après incision de la surface stérilisée à l'aide d'une lame bistouri stérile. Un ensemencement en stries serrées est ensuite réalisé sur des boîtes de pétri contenant la gélose Hektoen. Ces dernières sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures.

**II.4.3. Identification des bactéries****II.4.3.1. Examen macroscopique**

Une observation macroscopique des colonies sur milieu Hektoen est effectuée afin de déterminer la forme, la taille, l'aspect et la couleur.

**II.4.3.2. Examen microscopique**

Un frottis bactérien est réalisé à partir d'une colonie isolée puis coloré par la coloration de Gram et examiné au microscope au plus fort grossissement (X100).

**II. 4. 3. 2. 1. Préparation du frottis bactérien**

- Déposer une goutte d'eau sur une lame de verre propre.
- Prélever une colonie isolée ou une parcelle de culture à l'aide d'une anse de platine.
- Emulsionner la colonie dans la goutte d'eau pour obtenir une suspension laiteuse.
- Etaler la suspension sur la lame sur une surface d'un à deux centimètres carrés.
- Sécher au-dessus de la flamme du bec bunsen.
- Fixer le frottis en coupant la flamme du bec bunsen trois fois.

**II. 4. 3. 2. 2. Coloration de Gram**

La coloration de Gram permet de déterminer la nature de la paroi. Elle comporte trois étapes :

**1. Coloration**

- Recouvrir le frottis par une solution de violet de gentiane pendant une minute puis éliminer l'excès de colorant.
- Recouvrir le frottis par le lugol (solution iodo-iodurée) et laisser agir pendant une minute.

## 2. Décoloration

- Placer la lame dans une position oblique et verser l'alcool (éthanol 95°) goutte à goutte jusqu'à ce que l'excès de l'alcool soit éliminé.
- Rincer à l'eau pour l'arrêt de l'action de l'alcool.

## 3. Contre coloration

- Recouvrir le frottis par une solution de fuschine et laisser agir pendant une minute.
- Après cette coloration de contraste, le frottis est rincé à l'eau puis séché et examiné ensuite à immersion dans l'huile de cèdre au grandissement 100.

### II. 4. 3. 3. Identification biochimique par galerie API20E

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres Bacilles Gram négatif non fastidieux. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par les virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est réalisée à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

#### II.4.3.3.1. Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte
- Sortir la galerie de l'emballage.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

#### II. 4. 3. 3. 2. Préparation de l'inoculum

Une parcelle de culture a été prélevée à l'aide d'une anse de platine puis inoculée dans un tube à essai contenant 5 ml d'eau physiologique stérile. La suspension a été ensuite homogénéisée par le vortex puis ajustée au standard 0,5 McFarland.

#### II. 4. 3. 3. 3. Inoculation de la galerie

La suspension bactérienne est introduite dans les tubes de la galerie à l'aide d'une pipette pasteur.

- pour les tests encadrés : CIT, VP et GEL, le tube et la cupule ont été remplis.
- pour les tests soulignés: ADH, LDC, ODO, H<sub>2</sub>S. URE, anaérobiose a été créée en remplissant leurs cupules par l'huile de paraffine.
- Pour les autres tests, les tubes uniquement ont été remplis

Les boîtes ont été ensuite fermées et incubées à 37°C pendant 24 heures.

#### II. 4. 3. 3. 4. Lecture de la galerie

- Après incubation, la lecture de la galerie a été faite en se référant au tableau de lecture (**Annexe 03**). Trois tests nécessitant l'addition de réactifs:
  - **Test Tryptophane Désaminase (TDA)** : ajouter une goutte de réactif TDA. une couleur marron rougeâtre indique une réaction positive.
  - **Test Indole (IND)** : ajouter une goutte de réactif de Kovacs. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive.
  - **Teste Voges-Proskauer (VP)** : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2 puis attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées.
  - **Test d'oxydase :**

Le test a été réalisé selon les instructions du fabricant, il constitue le 21<sup>ème</sup> test d'identification noté sur la fiche de résultats. Un disque en papier filtre imprégné du réactif de l'oxalate de diméthyl paraphénylène Diamine a été imbibé avec une goutte d'eau puis un fragment de colonie prélevé à l'aide de la pipette pasteur a été déposé sur la surface du disque humide.

La présence d'une cytochrome-oxydase se traduit immédiatement par l'apparition d'une couleur violette.

#### II.4.3.3.5. Détermination du profil numérique :

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en plus additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres ; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21<sup>ème</sup> test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive. L'identification a été réalisée à partir de la base des données du catalogue analytique en recherchant le profil numérique à l'aide du logiciel d'identification **UPBM.com (Annexe 04)**.

### II.4.3. Antibiogramme

C'est une méthode analytique qui permet de déterminer *in-vitro* la sensibilité d'une souche bactérienne donnée vis-à-vis d'un antibiotique.

#### II.4.3. 1. Méthode de diffusion (antibiogramme standard)

##### a. Préparation de l'inoculum bactérien

A partir d'une culture pure et jeune de 18 heures sur milieu d'isolement, nous avons raclé à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. L'anse a été ensuite déchargée dans 10 ml d'eau physiologique stérile.

La suspension bactérienne a été ensuite homogénéisée en agitant le tube par le vortex, la densité optique a été ensuite lue au spectrophotomètre à 625nm afin de l'ajuster à l'échelle 0,5 McFarland.

##### a. Ensemencement du milieu de culture

Un écouvillon stérile est introduit dans la suspension bactérienne puis frotté sur la totalité de la surface de la gélose Mueller-Hinton, de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois.

##### b. Application des disques d'antibiotiques

Six disques d'antibiotiques ont été choisis parmi la liste des antibiotiques à tester pour les entérobactéries chez la volaille en Algérie en se référant à la standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Vétérinaire à l'échelle nationale (4<sup>ème</sup> Edition, 2008).

Les antibiotiques testés ont été choisis selon leur disponibilité au niveau du laboratoire de microbiologie de l'ISV de tiaret. Ces molécules sont: Néomycine(N<sup>30</sup>), Amoxicilline (AX<sup>25</sup>), Érythromycine (E<sup>15</sup>), Colistine (CT<sup>10</sup>), Tétracycline (TE<sup>30</sup>), Triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT<sup>25</sup>) et Acide Nalidixique (NA<sup>30</sup>).

Les disques sont déposés à l'aide d'une pince métallique stérilisée par flamage sur la surface du milieu de Mueller-Hinton préalablement ensemencé avec la suspension bactérienne.

##### c. Incubation :

Les boîtes de pétri sont incubées à 35°C pendant 24 heures.

##### d. Mesure des diamètres des zones d'inhibition

Les diamètres sont mesurés à l'aide d'une règle à l'extérieur de la boîte fermée puis comparés aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture de l'antibiogramme (Annexe 05). La bactérie est ensuite classée dans l'une des catégories suivante : sensible, intermédiaire ou résistante.

### III.1. Données générales

Tous les sujets autopsiés proviennent d'élevages dont les conditions d'ambiance sont déséquilibrées (taux d'ammoniac élevé, taux d'humidité inférieur à 40% et des écarts de température).

### III .2. Données anatomo-cliniques

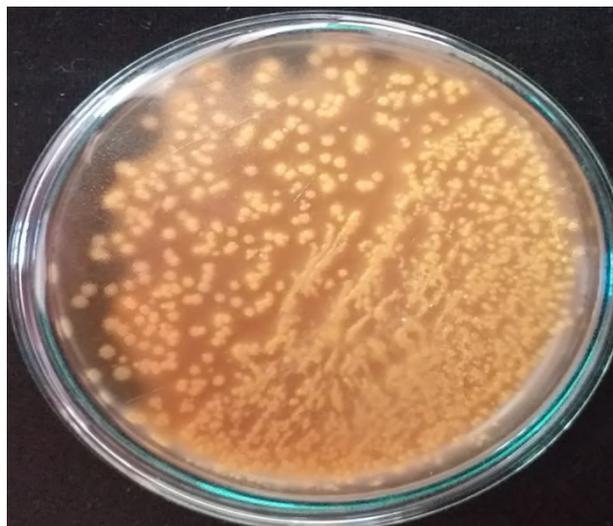
Les signes cliniques observés sont principalement : une faiblesse, des difficultés respiratoires (dyspnée, éternuement, toux, jetage, larmolement et ronflement), une anorexie, un retard de croissance, des omphalites et des arthrites.

Le tableau lésionnel est dominé par des lésions digestives exprimées par des entérites mucoïdes et des péritonites fibrineuses, des lésions cardiaques caractérisées par des péricardites fibrineuses associées à l'ascite et des lésions hépatiques fibrineuses. Des lésions respiratoires caractérisées principalement par des aéro-sacculites et des trachéites et enfin des lésions rénales représentées principalement par des néphrites. Une congestion musculaire a été aussi observée.

### III. 3. Diagnostic bactériologique

#### III. 3. 1. Examen macroscopique

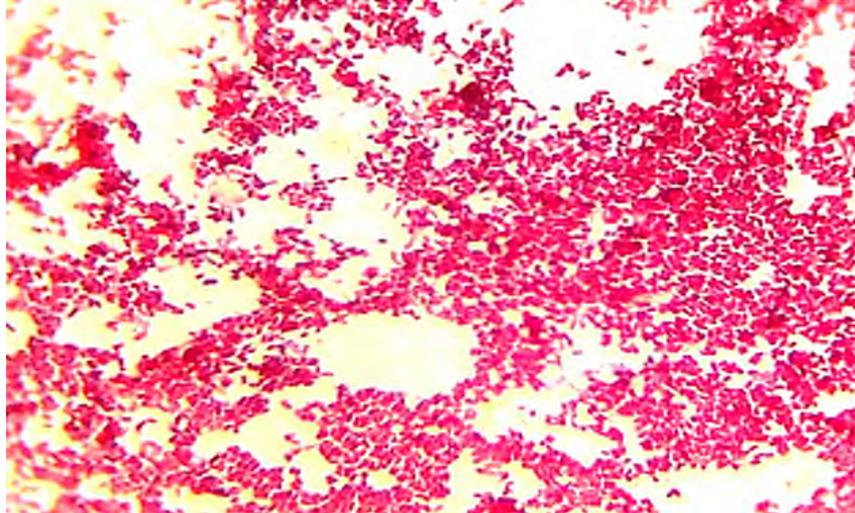
Les colonies observées sur la gélose Hektoen sont arrondies, bombées, brillantes, de couleur jaune orangée (figure 06)



**Figure 06 :** Colonies jaune-orangées (lactose positive) sur gélose Hektoen

### III. 3. 2. Examen microscopique

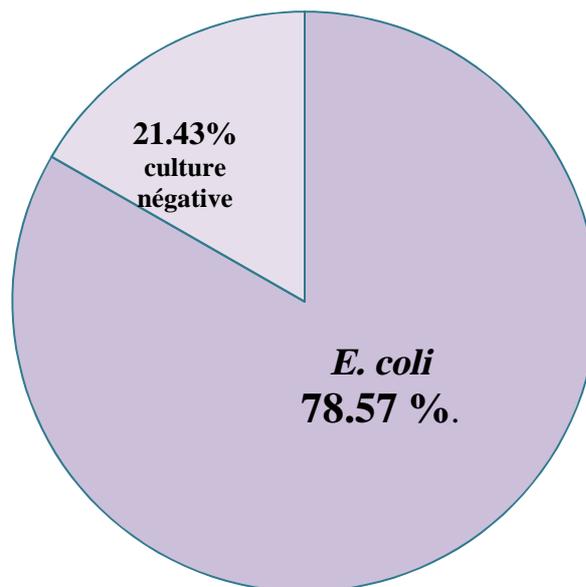
L'examen d'un frottis après coloration de gram a révélé la présence de coccobacilles à Gram négatif (figure 07)



**Figure 07 :** Observation microscopique de coccobacilles à gram négatif (x100)

### III. 3. 3. Identification biochimique par galerie API 20E

Sur 14 prélèvements examinés, *Escherichia coli* a été isolée et identifiée dans 11 prélèvements, soit un pourcentage de 78.57 %. Les trois autres prélèvements étaient négatifs à la culture, soit un pourcentage de 21.43% (figure 08).



**Figure 08.** Répartition des prélèvements selon l'agent pathogène.

Parmi les 33 souches d'*Escherichia coli* identifiées, 08 souches ont été isolées à partir de foie, 06 souches à partir du cœur et 19 souches à partir de l'intestin grêle (figure 09).

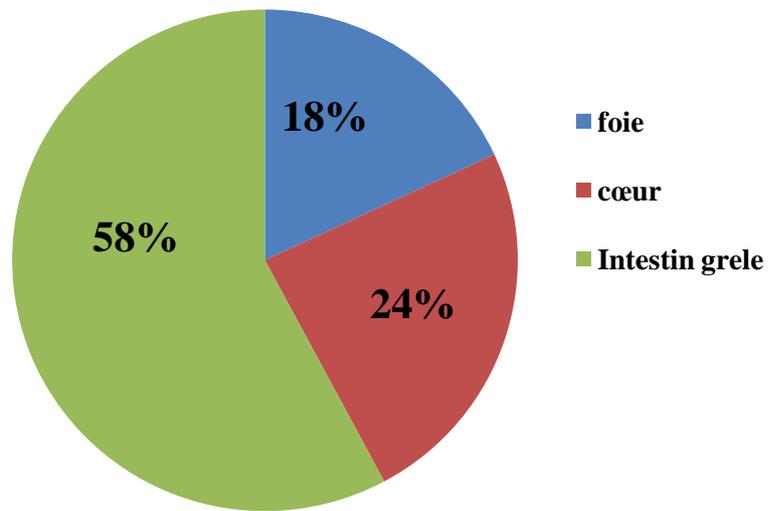


Figure 09 : Pourcentage des souches d'*Escherichia coli* isolées dans chaque organe

### III. 4. Antibiogramme

Le test de sensibilité des souches d'*Escherichia coli* aux antibiotiques testés a montré les résultats présentés dans la figure ci-dessous :

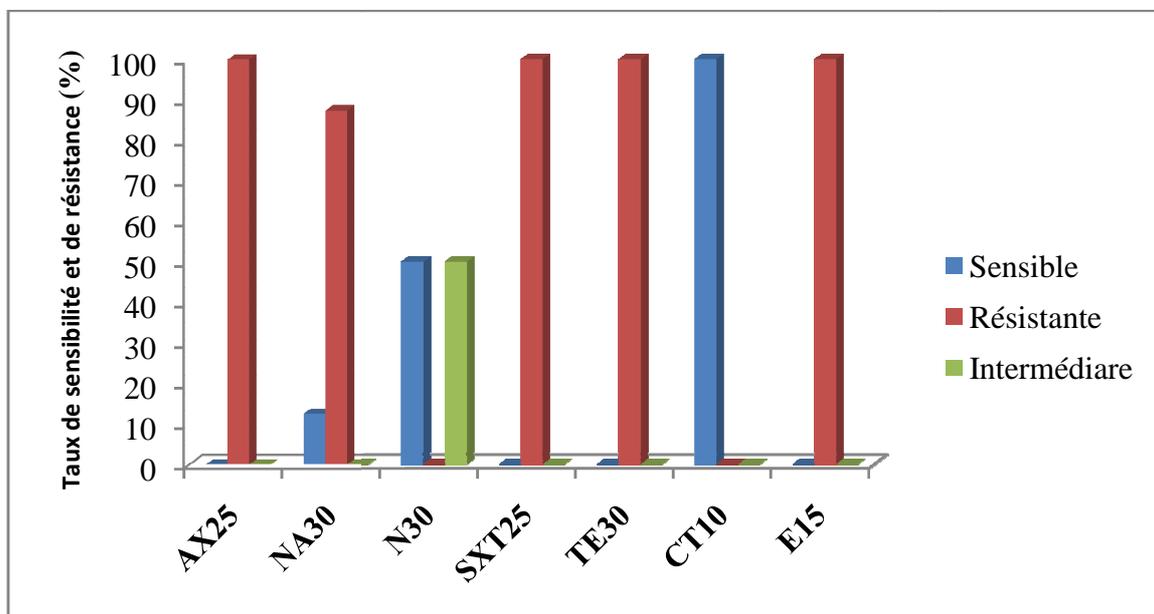
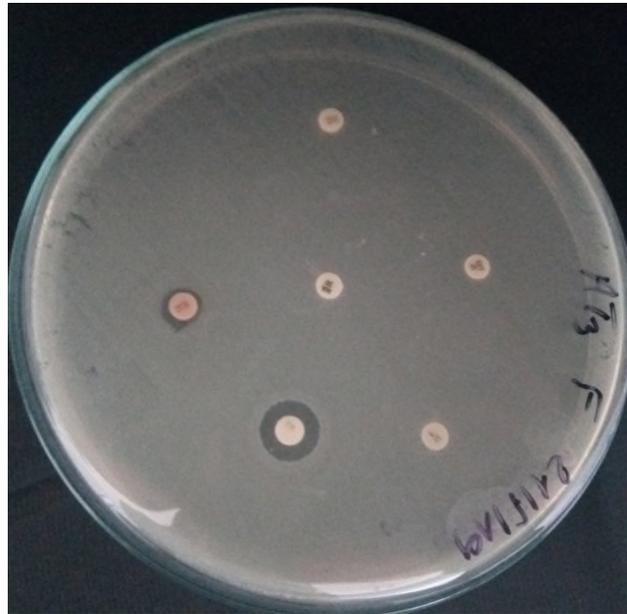


Figure 10. Taux de sensibilité et de résistance des souches d'*E. coli* isolées vis-à-vis des antibiotiques testés

Les résultats de la figure 10 montrent que toutes les souches (100%) étaient résistantes à quatre antibiotiques (Erythromicine, Amoxicilline, tetracycline et un sulfamide ; triméthoprime-sulfaméthoxazole). Par contre, la totalité des souches étaient sensibles à la colistine et à la néomycine (figure 11).



**Figure 11.** Effet des antibiotiques sur les souches *d'Escherichia coli*.

Ces taux de résistance sont plus élevés que ceux obtenus par **Belmahdi (2014)** qui a rapporté des taux de résistance *d'Escherichia coli* de 81,14% à la tétracycline, 80,32% à l'acide nalidixique et 62,29% au triméthoprime-sulfaméthoxazole.

Nos résultats révèlent un taux de résistance élevé (100%) vis-à-vis des bêta-lactamines (Amoxicilline). D'après **Rahmatallah et ses collaborateurs (2016)**, le taux de résistance à la pénicilline a atteint 90,1 % en 2016.

Nous avons aussi enregistré une résistance de toutes les souches à la tétracycline, ce qui rejoint l'observation des auteurs cités précédemment qui ont enregistré un taux de résistance de 100% à l'oxytétracycline qui est un antibiotique de la même famille de la tétracycline. Ce taux est plus élevé par rapport à celui obtenu par **Benameur et al., (2014)** sur 240 souches *d'Escherichia coli* isolées de colibacillose aviaire dans différentes régions de l'ouest Algérien (90.35%). **Hammoudi et ses collaborateurs (2008)** ont rapporté un taux de résistance à la tétracycline de 82% des souches *d'Escherichia coli* isolées dans la même région (ouest Algérien).

Dans une étude menée par Aggad et ses collaborateurs en 2010, le taux de résistance à l'oxytetracycline était de 87%

La résistance aux sulfamides est de l'ordre de 100 % dans notre étude, soit un taux plus élevé que ceux enregistrés par **Rahmattalha *et al.*, (2016)**, **Aggad *et al.*, (2010)** et **Hammoudi *et al.*, (2008)** qui ont enregistré des résistances de 82,2 % , 70% et 42%, respectivement.

Concernant la colistine, un antibiotique très utilisé sur le terrain en Algérie, nous avons enregistré un taux de sensibilité élevé (100%), soit un taux plus élevé que celui obtenu par **Aggad *et al.*,(2010)** qui ont rapporté un taux de sensibilité de 87%. En 2014, un taux de résistance à la colistine de 31.6% était enregistré par Benameur et ses collaborateurs.

## Conclusion

---

La colibacillose est une maladie très fréquente et surtout très redoutée en élevage avicole compte tenu de sa conséquence économique.

Le traitement de cette pathologie implique systématiquement l'utilisation d'antibiotiques or l'antibiothérapie probabiliste a conduit à l'émergence des souches résistantes dans une filière destinée à la consommation humaine.

A l'heure actuelle et la lumière de notre étude, le contrôle de l'antibio-résistance exigent le recours au laboratoire et la réalisation d'un antibiogramme avant ou en parallèle au traitement de cette pathologie.

## Références bibliographiques

---

1. **Kempf I; Bradbury JM & Kleven SH.** In "Diseases of poultry", Ed. Saif YM et al. Blackwell Publ., Ames 2008, pp 856-862.
2. **Kleven SH.** In «Diseases of poultry», Ed. Saif YM et al. Blackwell Publ., Ames 2008, pp 805-807.
3. **Kleven SH & Ferguson-Noel N.** In "Diseases of poultry",Ed. Saif YM et al. Blackwell Publ., Ames 2008, pp 845-856 & 862-864.
4. **Ley DH.** In "Diseases of poultry", Ed. Saif YM et al. Blackwell Publ., Ames 2008, pp 807-845.
5. **Stipkovits L & Kempf I.** Mycoplasmoses in poultry: an overview. Rev sci tech OIE, 1996,15: 1495-1525.
6. **Whithear KG.** Control of avian mycoplasmoses by vaccination, Rev sci tech OIE, 1996,15: 1527-1553.
7. **LK Nolan, HJ Barnes, TA Abdul-Aziz, CM Logue & JP Vaillancourt**
8. **Barnes HJ & Lozano F.** Colibacillosis in Poultry. Pfizer Veterinary Practicum, Pfizer Animal Health, Lee's Summit, 1994.MO, 45.
9. **Gross WB.** Diseases due to Escherichia coli in poultry. In Gyles CL ed.. Escherichia coli in Domestic Animals and Humans. CABI, Wallingford, 1994, pp 237–260.
10. **Harry, EG & Hemsley LA.** The association between the presence of septicaemia strains of Escherichia coli in the respiratory and intestinal tracts of chickens and the occurrence of coli septicaemia. Vet Rec, 1965,77:35-40.
11. **Nolan LK et al.** Colibacillosis. In "Diseases of Poultry", Swayne D. ed., Wiley-Blackwell 13th ed, 2013, pp 751-805.

# ANNEXES

## ANNEXES

---

**Annexe 01.** Composition des principaux milieux de culture utilisés.

**Gélose Muller –Hinton (Marchal *et al.*, 1982).**

Formule en gramme par litre d'eau distillée :

Infusion de viande de bœuf .....	2
Hydrolysate de caséine.....	17.5
Amidon.....	1.5
Agar.....	17
pH =7.4	

**Gélose Hektoen (Parodonsia, Conda S.A, Espagne)**

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Protéose-peptone .....	12
Extrait de levure : .....	03
Lactose .....	12
Saccharose.....	12
Salicine .....	2
Citrate de fer III et d'ammonium .....	1,5
Sels biliaires .....	9
Fuchsine acide .....	0,1
Bleu de bromothymol.....	0 ,065
Chlorure de sodium .....	5
Thiosulfate de sodium .....	5
Agar .....	14

## ANNEXES

pH =7,6.

### Annexe 02. Données générales des cas de poulets de chair étudiés

<b>Date du prélèvement</b>	<b>Bâtiment d'élevage</b>	<b>Age des sujets</b>	<b>suspicion</b>
02/03/2019	Mameche 01 Amari Tissemsilt	25 jours	MRC
02/03/2019	Mameche 02 lardjem	35 jours	Collibacilose
02/03/2019	Kanaab 01 zone industrielle Tissemsilt	21 jours	MRC
02/03/2019	Kanaab 02 maasem Tissemsilt	32 jours	MRC
02/03/2019	Kaanab 03 amari Tissemsilt	28 jours	MRC
14/05/2019	Kanaab 04 Tissemsilt	23 jours	MRC
14/05/2019	Kanaab 05 Tissemsilt	23 jours	MRC
14/05/2019	Kanaab 06 tissemsilt	23 jours	MRC
14/05/2019	Kanaab 07 tissemsilt	23 jours	MRC
14/05/2019	Hamla R1 Tissemsilt	40 jours	MRC
19/05/2019	Atassi 01 Tissemsilt	03 jours	Omphalite
19/05/2019	Atassi 02 Tissemsilt	03 jours	Omphalite
19/05/2019	Atassi 03 Tissemsilt	03 jours	Omphalite
19/05/2019	Aissa mazouna Relizane	25 jours	MRC

## ANNEXES

**Annexe 03.** Tableau de lecture de la galerie API20E

TESTS	AKTIVE BESTANDTEILE	MENGE (mg/Vert.)	REAKTIONEN/ENZYME	ERGEBNISSE	
				NEGATIV	POSITIV
ONPG	2-Nitrophenyl-β-D-Galaktopyranosid	0,223	β-Galaktosidase (Ortho-Nitrophenyl-β-D-Galaktopyranosidase)	farblos	gelb (1)
<u>ADH</u>	L-Arginin	1,9	Arginin DiHydrolase	gelb	rot / orange (2)
<u>LDC</u>	L-Lysin	1,9	Lysin DeCarboxylase	gelb	rot / orange (2)
<u>ODC</u>	L-Omithin	1,9	Omithin DeCarboxylase	gelb	rot / orange (2)
<u>CIT</u>	Trinatriumcitrat	0,756	CITratverwertung	hellgrün / gelb	blau-grün / blau (3)
<u>H<sub>2</sub>S</u>	Natriumthiosulfat	0,075	H <sub>2</sub> S-Bildung	farblos / gräulich	schwarzer Niederschlag
<u>URE</u>	Harnstoff	0,76	UREase	gelb	rot / orange (2)
TDA	L-Tryptophan	0,38	Tryptophan DesAminase	<u>TDA / sofort</u>	
				gelb	rotbraun
IND	L-Tryptophan	0,19	INDol-Bildung	<u>JAMES / sofort</u>	
				farblos hellgrün / gelb	rosa
<u>VP</u>	Natriumpyruvat	1,9	Acetoinbildung (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u>	
				farblos / blassrosa	rosa / rot (5)
<u>GEL</u>	Gelatine (bovinen Ursprungs)	0,6	Gelatinase (GELatine)	keine Diffusion	Diffusion der schwarzen Tusche
GLU	D-Glukose	1,9	Fermentation / Oxidation (GLUKose) (4)	blau / blau-grün	gelb / gelb grau
MAN	D-Mannit	1,9	Fermentation / Oxidation (MANnit) (4)	blau / blau-grün	gelb
INO	Inosit	1,9	Fermentation / Oxidation (INOSit) (4)	blau / blau-grün	gelb
SOR	D-Sorbit	1,9	Fermentation / Oxidation (SORbit) (4)	blau / blau-grün	gelb
RHA	L-Rhamnose	1,9	Fermentation / Oxidation (RHAmnose) (4)	blau / blau-grün	gelb
SAC	D-Saccharose	1,9	Fermentation / Oxidation (SACcharose) (4)	blau / blau-grün	gelb
MEL	D-Melibiose	1,9	Fermentation / Oxidation (MELibiose) (4)	blau / blau-grün	gelb
AMY	Amygdalin	0,57	Fermentation / Oxidation (AMYgdalin) (4)	blau / blau-grün	gelb
ARA	L-Arabinose	1,9	Fermentation / Oxidation (ARABinose) (4)	blau / blau-grün	gelb
OX	(siehe Arbeitsanleitung des Oxidase-Tests)		Cytochrom OXidase	(siehe Arbeitsanleitung des Oxidase-Tests)	

## ANNEXES

### Annexe 04 .Profil biochimique d'*Escherichia coli* sur galerie API20E



Aspect de la galerie API 20<sup>E</sup> inoculée avec une suspension bactérienne avant incubation



Profil biochimique d'*Escherichia coli*

## ANNEXES

---

Antibiotique	Symbole	Concentration (µg)	Résistant mm	Intermédiaire mm	Sensible mm
Neomycine	N	30	≤13	14-17	≥18
Amoxicilline	AX	25	≤13	14-17	≥18
Érythromycine	E	15	≤13	14-17	≥18
Colistrine	CT	10	≤8	9-10	≥11
Tétracycline	TE	30	≤ 14	15-18	≥19
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	SXT	25	≤10	11-15	≥16
Acide Nalidixic	NA	30	≤13	14-18	≥19

Annexe 05 .Table de lecture de l'antibiogramme

## ANNEXES

---

### Annexe 06. Résultats de l'antibiogramme

	<b>E15</b>	<b>NA30</b>	<b>N30</b>	<b>SXT25</b>	<b>TE30</b>	<b>AX25</b>	<b>CT10</b>
Souche 01	<b>RR</b>	<b>RR</b>	<b>S</b>	<b>ND</b>	<b>RR</b>	<b>RR</b>	<b>S</b>
Souche 02	<b>RR</b>	<b>RR</b>	<b>S</b>	<b>ND</b>	<b>RR</b>	<b>RR</b>	<b>S</b>
Souche 03	<b>RR</b>	<b>RR</b>	<b>I</b>	<b>RR</b>	<b>R</b>	<b>RR</b>	<b>ND</b>
Souche 04	<b>RR</b>	<b>RR</b>	<b>S</b>	<b>RR</b>	<b>R</b>	<b>RR</b>	<b>ND</b>
Souche 05	<b>RR</b>	<b>RR</b>	<b>I</b>	<b>RR</b>	<b>R</b>	<b>RR</b>	<b>ND</b>
Souche 06	<b>RR</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>RR</b>	<b>R</b>	<b>RR</b>	<b>ND</b>
Souche 07	<b>R</b>	<b>RR</b>	<b>I</b>	<b>RR</b>	<b>R</b>	<b>RR</b>	<b>ND</b>
Souche 08	<b>R</b>	<b>RR</b>	<b>S</b>	<b>RR</b>	<b>R</b>	<b>RR</b>	<b>ND</b>

## ANNEXES

---