



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Magister en sciences vétérinaires
Option : Hygiène et Qualité des Aliments d'Origine Animale

THÈME

Antibiorésistance des entérobactéries d'origine aviaire au niveau de l'ouest Algérien

Présenté par Monsieur :BOUTAIBA BENKLAOUZ Meki

Jury :

Président :	HAMMOUDI Abdelhamid	<i>Pr. Univ. Ibn Khaldoun de Tiaret</i>
Encadreur :	AGGAD Hebib	<i>Pr. Univ. Ibn Khaldoun de Tiaret</i>
Examineurs :	ZIANE Mohammed	<i>M.C. (A). Centre univ. d'Ain.Temouchent</i>
	ZIDANE Khaled	<i>M.C. (A). Univ. Ibn Khaldoun de Tiaret</i>
Membre invité:	KEBIR Ahmed	<i>Dr. vétérinaire 3^{ème} degré.Laboratoire vétérinaire .régional de Mostaganem</i>

Année universitaire 2016-2017

Table des matières

DEDICACES.....	I
REMERCIEMENTS.....	II
LISTE DES TABLEAUX.....	III
LISTE DES FIGURES.....	IV
LISTE DES ABREVIATIONS.....	V
LISTE DES ANNEXES.....	VI
RESUME EN ARABE.....	VII
RESUME EN FRANÇAIS.....	IIIX
RESUME EN ANGLAIS.....	IX

Introduction

1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les entérobactéries

1. Définition.....	3
2. Historique et Taxonomie.....	3
3. Habitat.....	3
4. Classification.....	4
4.1. Tribu des <i>Escherichiae</i>	4
4.2. Tribu des <i>Klebsiellae</i>	5
4.3. Tribu des <i>Proteae</i>	6
4.4. Tribu des <i>Yersiniea</i>	6
5. Caractères bactériologiques.....	6
5.1. Caractères morphologiques.....	6
5.2. Caractères cultureux.....	7
5.3. Caractères biochimiques.....	7
5.4. Caractères antigéniques.....	10

Chapitre II : Infections dues aux entérobactéries pathogènes

1. Infections à <i>E. coli</i>	11
1.1. Epidémiologie des infections à <i>E. coli</i>	11
1.2. Pathogénie des infections dues aux souches <i>APEC</i>	12

1.3. Classification des <i>APEC</i>	14
1.4. Tableau clinique et lésion des infections aviaires à <i>E. coli</i>	14
1.5. Diagnostic.....	17
1.6. Traitement.....	18
1.7. Prophylaxie.....	18
2. Infections à <i>Salmonella</i>	19
2.1. Salmonelloses aviaires.....	19
2.2. Epidémiologie des infections à <i>Salmonella</i>	19
2.3. Pathogénie et virulence.....	20
2.4. Tableau clinique et lésionnel.....	21
2.5. Diagnostic.....	22
2.6. Traitement.....	23
2.7. Prophylaxie.....	24

Chapitre III : Antibiotiques et antibiorésistance

1. Antibiotiques.....	25
1.1. Définition.....	25
1.2. Critère de classification.....	25
1.3. Mode d'action.....	25
1.4. Usage des antibiotiques en espèce aviaire.....	26
2. Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	27
2.1. Définitions.....	27
2.2. Types de résistance.....	27
2.3. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques.....	28
2.4. Support génétique de la résistance.....	30
2.5. Transfert de matériel génétique (Diffusion de la résistance chez les bactéries).....	32
2.6. Résistance des entérobactéries aux β -lactamines.....	34
2.6.1. Généralités sur les β -lactamines.....	34
2.6.2. Types de résistance aux β -lactamines.....	36
2.6.3. Mécanismes de résistance aux β -lactamines.....	37
2.7. Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE).....	41
2.7.1. Définition.....	41
2.7.2. Différents types de BLSE.....	41
2.8. Impact de la résistance aux antibiotiques.....	43

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes	44
1. Matériel.....	44
1.1. Localisation des sites de l'étude.....	44
1.2. Population étudiée et durée de l'expérimentation.....	44
1.3. Nature des échantillons.....	44
1.4. Matériel de laboratoire.....	45
1.5. Milieux de culture.....	45
1.6. Tests biochimiques.....	45
1.7. Disques d'antibiotiques.....	46
2. Méthodes.....	46
2.1. Diagnostic nécropsique.....	46
2.2. Diagnostic de laboratoire.....	46
2.2.1. Méthodes d'isolement et d'identification des entérobactéries.....	47
2.2.2. Sérotypage des salmonelles	49
2.2.3. L'identification par la spectrométrie de masse (MALDI –TOF MS).....	49
2.3. Antibiogramme.....	50
2.4. La détection de phénotype de résistance des souches productrices de BLSE.....	52
2.5. L'analyse statistique de l'étude.....	53
II. Résultats et discussion	54
Conclusion	75
Recommandations	
Références bibliographiques	
Annexes	

Dédicaces

Je dédie ce mémoire,

A tous ceux qui me sont proches et chers, mes parents, Pour leur soutien permanent dans mes études et dans ma vie, leur confiance en moi, leur encouragements, et leur amour.

A mes frères et sœurs, pour leur support continu et leur amour.

A l'ensemble de la famille BOUTAIBA BENKLAOUZ.

A toute ma promotion

Et à tous mes amis.

Remerciements

Merci à dieu le tout puissant qui m'a doté de volonté et de patience pour ce travail.

Ce travail a été effectué au sein de service de bactériologie médicale du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem, Algérie.

Mes remerciements s'adressent d'abord, à mon directeur de mémoire, le professeur AGGAD Hebib. Je le remercie pour son encadrement, pour ses encouragements et pour sa rigueur scientifique au quotidien durant cette année.

Je tiens également à remercier :

Mr HAMMOUDI Abdelhamid, professeur à l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret, pour avoir accepté de présider le jury.

Mr ZIANE Mohammed, maître de conférences A au centre universitaire d'Ain Temouchent, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mr ZIDANE Khaled, maître de conférences A à l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au docteur KEBIR Ahmed, directeur du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem; de m'avoir accueillie dans son établissement, a mis à ma disposition tout le matériel nécessaire pour la recherche. Je le remercie pour le temps qu'il m'a consacré malgré ses obligations et ses responsabilités. Merci pour sa collaboration sans laquelle ce travail n'aurait pu être réalisé.

Je tiens aussi à exprimer mes plus profonds remerciements au tout le personnel du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem, notamment celui du service de bactériologie médicale. Surtout SBAI Ali, BOUKHAMKHAM Naziha, BOUZIRI Jalel. Je les remercie pour leur entière collaboration, leurs précieux conseils et leurs encouragements.

Je voudrais désormais remercier mes collègues intimes Mr BENAMEUR Qada enseignant à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem et Mr BOUAMRA Mohammed enseignant au centre universitaire d'Ain Temouchent pour leurs discussions scientifiques et leur ouverture d'esprit.

Mes vifs remerciements s'adressent également au Monsieur BELKAYOUSSE Abdelkrim, pour sa disponibilité et son aide dans la correction et la rédaction de ce mémoire.

Un merci tout spécial à mes collègues et amis, les étudiants de magister « Hygiène alimentaire », pour leur aide et leurs encouragements lors de la préparation de ce mémoire et au cours de l'année théorique: Zahira, Fatima, Fouzia, Omar, Mabrouk, Omar Amine et Mahmoud. Les bons moments que nous avons passés ensemble seront toujours inoubliables.

Je remercie aussi tous mes collègues, enseignants et responsables, ainsi que les personnels administratifs de l'inspection vétérinaire de la willaya de Mostaganem.

Merci enfin à l'ensemble des personnes qui m'ont aidé de près ou de loin dans l'élaboration de mon mémoire.

Merci.....!

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition et caractères différentiels des tribus des <i>Enterobacteriaceae</i>	9
Tableau 2 : Les mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques.....	30
Tableau 3 : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.....	46
Tableau 4 : Nature des prélèvements effectués selon l'âge de l'animal.....	50
Tableau 5 : Répartitions des principales souches en fonction de la région.....	57
Tableau 6 : Analyse de variance: deux facteurs sans répétition d'expérience.....	66
Tableau 7 : le test LSD	66
Tableau 8 : Les antibiotypes de résistance de <i>Salmonella spp.</i>	67
Tableau 9 : Les antibiotypes de résistance les plus fréquents d' <i>E.coli</i>	68

Liste des figures

Figure 1 : Structure et aspect microscopique des <i>Enterobacteriaceae</i>	6
Figure 2 : mode d'action des antibiotiques.....	26
Figure 3 : Les trois voies de transmission des résistances bactériennes.....	32
Figure 4 : Cycle β -lactame.....	34
Figure 5 : Structure moléculaire des β -lactamines.....	36
Figure 6 : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame.....	39
Figure 7 : Structure moléculaire des inhibiteurs de β -lactamases.....	40
Figure 8 : Répartition des souches isolées.....	53
Figure 9 : Répartition des souches en fonction des prélèvements	54
Figure 10 : Agglutination sur lame d'une Salmonelle (OMA- et OMB+).....	56
Figure 11 : Les sérums polyvalents des Salmonelles OMA et OMB	56
Figure 12 : Résultats de l'antibiogramme d'une souche <i>E. coli</i> vis-à-vis de 14 antibiotiques avec une résistance aux 9 antibiotiques.....	58
Figure 13 : Résultats de l'antibiogramme d'une souche <i>Salmonella spp.</i> vis-à-vis de 14 antibiotiques avec une résistance aux 5 antibiotiques.....	58
Figure 14 : Pourcentage de résistance d' <i>E.coli</i>	59
Figure 15 : Pourcentage de résistance de <i>Proteus spp.</i>	62
Figure 16 : Pourcentage de résistance d' <i>Enterobacter spp.</i>	63
Figure 17 : Pourcentage de résistance de <i>Salmonella spp.</i>	64
Figure 18 : Pourcentage de la multirésistance d' <i>E.coli</i>	67
Figure 19 : Pourcentage des souches productrices de BLSE.....	69
Figure 20 : profil de résistance d'une souche <i>E.coli</i> suspect BLSE.....	70
Figure 21 : Confirmation par DDST d'une souche <i>E.coli</i> BLSE.....	70
Figure 22 : Pourcentages de résistances des souches productrices de BLSE aux différents antibiotiques.....	72

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADH : Dihydrolase de l'Arginine

ADC : Décarboxylase de l'Arginine

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique

AMP : Ampicilline

APEC : *Aviain pathogenic Escherichia coli*

API 20E: Analytical Profile Index 20 Enterobacteria.

ARN : Acide ribonucléique

ATB : Antibiotique

ATCC : American Type Culture Collection

BES : brazilian extended spectrum

BLSE : Béta-Lactamase à Spectre Elargi ou Etendu

C : Chloramphénicol

C° : Degré Celsius.

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

C1G : Céphalosporine de 1^{ère} génération

C2G : Céphalosporine de 2^{ème} génération

C3G : Céphalosporine de 3^{ème} génération

C4G : Céphalosporine de 4^{ème} génération

CLSI: Clinical and laboratory standard institut

CN : Gentamycine

Colistine R : résistance à la colistine

CT: Colistine

CTX-M: Céfotaximase-Munich

DDST: Double disk synergy test

E. coli: Escherichia coli

EMB : Bleu d'éosine méthylène

ENR : Enrofloxacin

EBLSE: Entérobactéries productrice de béta-lactamase à spectre étendu

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FT : Nitrofurantoine

GES : Guyana extended spectrum

H : Antigène flagellaire
HK : Hecktoen
H₂S : Sulfure d'hydrogène
K : Antigène capsulaire
LDC : Décarboxylase de Lysine
MALDI-TOF MS: Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight
ml : millilitre.
µg : microgramme
N : Néomycine
NA : Acide nalidixique
NaCl : Chlorure de sodium
NX : Norfloxacin
O : Antigène de la paroi « somatique »
ODC : Décarboxylase de l'ornithine
OMS : Organisation mondiale de la santé.
O.N.P.G: Orth-nitro Phényl Galactoside
PCR : Polymérase Chain Reaction
PDA : Décarboxylase de phénylalanine
PER : Pseudomonas extended resistance
PLP : Protéines liants la pénicilline
RM : Rouge de méthyle
SFM : Société Française de Microbiologie
SFO : Serratia fonticola
SHV : Sulfhydryl variable
Spp : Espèce
SXT : Triméthoprime +sulfaméthoxazole
TDA : Tryptophane Désaminase
TE : Tétracycline
TEM: Temoneira
TLA : Tlahuicas, tribu mexicaine
TSI: Triple Sugar Iron
VEB: Vietnam extended spectrum
VP: Voges-Proskauer
XNL: Ceftiofur

Liste des annexes

Annexe 1: Composition des milieux utilisés

Annexe 2: Tableau de liste des antibiotiques à testés pour les entérobactéries dans le domaine vétérinaire

Annexe 3: Tableau de lecture des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions pour entérobactéries

Annexe 4: Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour la souche de référence utilisée pour le contrôle de qualité « Souche *E. coli* ATTC 25922 »

Annexe 5: Résistance naturelle chez les principales espèces d'entérobactéries selon Le CA-SFM / EUCAST

Annexe 6: Test d'oxydase + et -

Annexe 7: Conduite du sérotypage des *Salmonella*

Annexe 8: Profils biochimique d'*E.coli* sur galerie APIE 20 et galerie classique

Annexe 9: Profils biochimique de *Salmonella spp.* sur galerie APIE 20 et galerie classique

Annexe10: Caractères cultureux d'*Escherichia coli*

Annexe 11: Caractères cultureux de *Salmonella spp*

Annexe 12: L'aspect des entérobactéries après coloration de Gram (-)

Annexe 13: Photos de quelques matériels utilisés

Annexe 14 : Les différentes étapes d'identification par MALDI-TOF MS

الملخص

بكتيريا الأمعاء تمثل واحدة من العائلات الرئيسية من العصيات سلبية الغرام المسؤولة عن الأمراض الخطيرة في مزارع الدواجن، وخاصة تلك الناتجة عن نوعي ايشيريشيا وسالمونيلا. رصد الحساسية للمضادات الحيوية في المخبر هو خطوة أساسية، فإنه يوجه لاختيار العلاج التجريبي و يقلل من الضغوطات الممارسة من طرف المضادات الحيوية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم مستويات مقاومة بكتيريا الامعاء المعزولة عند الدواجن في ست مناطق في غرب الجزائر. بين أبريل وأكتوبر عام 2016، تم عزل 254 سلالة بكتيريا الامعاء على مستوى المخبر الإقليمي للطب البيطري بمستغانم، وقد احتلت ايشيريشيا كولي الصدارة بنسبة 57.08٪، تليها بروتيوس (17.32٪) ثم انتيروباكترا (12.59٪) و سالمونيلا (1.18٪). كما تم تقييم الحساسية الى أربعة عشر مضاد حيوي عن طريق انتشار الاقراص في وسط هلامي وفقا لمعايير CLSI.

تم الكشف عن السلالات المنتجة لـ BLSE عن طريق اختبار التأزر وأكد ذلك من خلال طريقة القرص المزدوج. وأظهرت النتائج التي توصلنا إليها ان 90.34٪ و 86.89٪ هي نسب مقاومة ايشيريشيا كولي لحمض الناليديكسيك والتتراسيكلين، على التوالي، في حين الأميسيلين كان حوالي 82.75٪.

إن نسبة تنذر بالخطر قد سجلت بالنسبة لمقاومة ايشيريشيا كولي لمضاد حيوي واحد (100 %) ، نفس الشيء بالنسبة للمقاومة المتعددة (97,24 % منها سجلت مقاومة لمضادين حيويين على الأقل و 95,86 % لا يقل عن ثلاث مضادات حيوية).

وكانت جميع سلالات السالمونيلا مقاومة أيضا إلى مضاد حيوي واحد على الأقل، ولكن الغالبية العظمى كانت مقاومة للتتراسيكلين. كما أظهرت الأنواع الأخرى لبكتيريا الأمعاء أيضا مقاومة عالية للمضادات الحيوية. أظهرت 1.96٪ من سلالات ايشيريشيا كولي النمط الظاهري BLSE ، كما جمعت سلالتين من بينهم نمطين ظاهريين للمقاومات BLSE وكوليسيتين R.

احترام و وضع نظام لمراقبة مقاومة المضادات الحيوية عند الطيور يعد امرا ذا أولوية فصوي.

الكلمات المفتاحية : بكتيريا الأمعاء، ايشيريشيا كولي، سالمونيلا، مقاومة المضادات الحيوية، BLSE ، تربية الدواجن.

Résumé

Les entérobactéries représentent une des principales familles de bacilles à Gram négatif responsables de pathologies graves dans les élevages avicoles, surtout celles causées par les genres *Escherichia* et *Salmonella*. La surveillance de la sensibilité aux antibiotiques au laboratoire est une étape essentielle; elle permet de l'orientation du choix des traitements empiriques et de la réduction de la pression de sélection exercée par les antibiotiques. La présente étude avait pour objectif d'évaluer les niveaux de résistances des entérobactéries d'origine aviaire au niveau de six régions dans l'ouest Algérien. Entre Avril et Octobre 2016, 254 souches d'entérobactéries a été isolé au niveau de laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem, *Escherichia coli* a occupé la première place (57,08 %), suivie par *Proteus spp* (17,32 %), *Enterobacter spp* (12,59%) et enfin *Salmonella spp* (1,18%). L'évaluation de la résistance des isolats vis-à-vis de quatorze antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les normes de CLSI. La détection des souches productrice de BLSE a été faite par le test de synergie et confirmée par la méthode de double disque. Nos résultats ont montré que 90,34% et 86,89% des *E. coli* sont résistantes respectivement à l'acide nalidixique et la tétracycline, alors que pour l'ampicilline celle-ci était aux alentours de 82,75%. Un taux alarmant de l'antibiorésistance d'*E. coli* vis-à-vis d'un seul antibiotique a été révélé (100%), ainsi que pour la multirésistance (97.24% pour au moins 2 antibiotiques et 95,86% pour au moins 3 antibiotiques). Toutes les souches de *Slamonella* étaient résistantes aussi à au moins un antibiotique mais la vaste majorité était résistante aux tétracyclines. Les autres espèces d'entérobactéries présentaient aussi des pourcentages d'antibiorésistances élevés. 1,96% des souches d'*E.coli* ont présenté le phénotype BLSE et deux isolats parmi lesquelles ont associé deux phénotypes de résistances BLSE et colistine R.

L'instauration d'un plan de surveillance de l'antibiorésistance en pathologie aviaire est de priorité.

Mots clés : Entérobactéries, *E.coli*, *Salmonella*, antibiorésistance, BLSE, aviculture.

Abstract

Enterobacteriaceae represent major families of Gram-negative bacteria responsible for serious diseases in poultry farms, especially those caused by *Escherichia* and *Salmonella* genera. Surveillance of antibiotic susceptibility in the laboratory is an essential step; it guides the choice of empirical treatment and reduces the selection pressure exerted by antibiotics. The aim of this study was to assess resistance levels of enterobacteriaceae of avian origin in six regions in western Algeria. Between April and October 2016, 254 strains of Enterobacteriaceae were isolated at the regional veterinary laboratory of Mostaganem, *Escherichia coli* is ranked first (57,08%) followed by *Proteus* spp. (17,32%), *Enterobacter* spp (12,59%) and finally *Salmonella* spp (1,18%). The evaluation of resistance isolates against 14 antibiotics was performed using the disk diffusion method in agar medium, according to CLSI standards, ESBL producing strains were detected by synergy test and confirmed by double disc synergy test. Our results showed that 90.34% and 86.89% of *E. coli* were resistant respectively to nalidixic acid and tetracycline, while for ampicillin it was around 82.75%. An alarming rate of antibiotic resistance to a single antibiotic has been noticed (100%), as well as multidrug resistance (97.24% for at least 2 antibiotics and 95.86% for at least 3 antibiotics). All *Salmonella* strains were resistant to at least one antibiotic, but the majority of them were resistant to tetracyclines. The other species of enterobacteriaceae also showed high levels of antibiotic resistance. 1.96% of the *E.coli* strains showed the ESBL phenotype and two isolates of them included the both phenotypes of ESBL and colistin R.

The establishment of a monitoring program to reduce this increasing antimicrobial resistance in avian pathology is a priority.

Keywords: Enterobacteriaceae, *E.coli*, *Salmonella*, antimicrobial resistance, ESBL, poultry.

Introduction

Introduction

Durant les trois dernières décennies, la filière avicole algérienne a connu l'essor le plus spectaculaire parmi les productions animales. L'offre en viandes blanches est passée de 95 000 à près de 300 000 tonnes entre 1980 et 2010, soit une progression de +212 % en 30 ans (MADR, 2011).

Néanmoins, Les données fournies par les enquêtes effectuées ces dernières années au niveau des élevages avicoles privés algériens, ainsi que leur comparaison avec des données analogues pour le Maroc et la France, indiquent clairement le retard enregistré par la filière avicole nationale en termes de performances techniques de production, et ça est due principalement à la non-conformité des bâtiments d'élevage en matière d'hygiène (Kaci et al., 2013).

La volaille constitue l'un des principaux réservoirs des entérobactéries et se trouve par conséquent souvent incriminée dans de nombreuses toxi-infections alimentaires collectives (Cardinale et al., 2002). Et si, l'association entre salmonelles et viande de poulet s'est très vite installée faisant de la lutte contre le genre *Salmonella* l'une des préoccupations majeures du monde vétérinaire et de l'industrie agroalimentaire, tant du fait de la maladie provoquée chez l'animal, que par leur association très étroite avec les toxi-infections alimentaires chez l'homme (Bouvet, 2003), les *Esherichia coli* (*E.coli*), bactérie de la flore intestinale commensale des animaux, tout en continuant à être l'une des plus importantes causes de pertes économiques dans le secteur avicole, n'ont guère été, un souci de santé public. Seuls certains pathotypes d'*E coli*, susceptibles d'infecter l'homme, peuvent être véhiculés par les volailles (Guerin et Boissieu, 2006).

Le développement de l'élevage intensif dans le secteur de l'aviculture s'est accompagné d'une utilisation massive des antibiotiques aussi bien pour le traitement et la prévention des infections que pour l'amélioration des performances zootechniques. En effet, l'utilisation abusive et sans contrôle peut donner naissance à une sélection de souches bactériennes résistantes, en effet il s'agit de l'antibiorésistance (Chauvin, 2009).

Cependant, La résistance bactérienne aux antibiotiques (ATB) est en perpétuelle évolution. Cette résistance bactérienne est la résultante d'interactions complexes entre la bactérie d'une part et son environnement d'autre part. Elle est liée essentiellement à un usage excessif des antibiotiques aussi bien en médecine humaine, qu'en médecine vétérinaire ou dans

l'alimentation animale. Les bactéries pour faire face à la pression de sélection exercée par les antibiotiques utilisent des parades leur permettant de s'adapter aux conditions hostiles de leur environnement (Ben redjeb et *al.*, 2000).

Depuis plus de 20 ans, la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) ne cesse de se renforcer notamment par l'acquisition de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). De nombreuses études relatent la progression continue à l'échelle mondiale de ce type de résistance (Coque et *al.*, 2008).

L'antibiorésistance est un réel problème en médecine vétérinaire avec un impact majeur en termes de santé publique. En effet, le transfert de bactéries multi résistantes, directement de l'animal à l'homme, la diffusion de gènes de résistance, constituent une menace réelle (Acar et *al.*, 2001).

Au niveau national le nombre de travaux effectués dans ce sujet reste très modeste; de même les efforts fournis par le ministère de l'agriculture restent insuffisants pour faire face à ce problème qui affecte le secteur avicole d'une part et la santé humaine d'autre part. Ce travail a eu pour principal objectif, l'étude de l'antibiorésistance des entérobactéries d'origine aviaire (chair et ponte) au niveau de six régions dans l'ouest algérien ; Mostaganem, Mascara, Relizane, Chlef, Tiaret et Tissemsilt. Notre étude s'est étalée en trois paliers :

1. Identifier les espèces d'entérobactéries dominantes dans les filières chair et ponte ;
2. Déterminer le profil de résistance des souches isolées ;
3. Détecter les souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi.

Synthèse
bibliographique

Chapitre I:
Généralités sur les
entérobactéries

Chapitre I : Généralités sur les entérobactéries

1. Définition

Les entérobactéries sont définies par un ensemble de caractères généraux communs. Ce sont des bacilles à Gram négatif, dont les dimensions varient de 6 µm de long et 0,3 à 1 µm de large, Ces dimensions varient suivant l'âge de la culture, l'espèce, la souche. Certaines espèces peuvent être très polymorphes, notamment le genre *Proteus*.

Elles sont non sporulés, le plus souvent mobiles, mais immobiles dans le cas des bactéries des genres *Klebsiella*, *Shigella* et *Yersinia*.

Elles sont aérobies-anaérobies facultatives et elles peuvent être cultivées sur les milieux ordinaires.

Elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites (sauf certaines souches d'*Erwinia* et *Yersinia*).

Elles n'ont pas d'oxydase et possèdent une catalase (sauf *Shigella dysenteriae* sérotype 1).

Ces caractères permettent de différencier les entérobactéries des autres bacilles à Gram négatif pouvant être cultivés sur des milieux ordinaires (Avril et al., 2000 ; Joly et Reynaud, 2002).

2. Historique et taxonomie

Les entérobactéries constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. La création de ce groupe a été proposée par Rahn en 1937 qu'il dénomma *enterobacteriaceae* et dans lequel il rassembla les genres bactériens déjà décrits (tels que *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Shigella*) dans le genre unique *Enterobacter*. Les entérobactéries sont des *Eubactéries*, appartiennent à la division des *Proteobacteria*, la classe des *Gammaproteobacteria*, à l'ordre des *Enterobacteriales* et à la famille des *Enterobacteriaceae*. La subdivision des genres et espèces est basées sur la comparaison des caractéristiques physiologiques, biochimiques, antigéniques et génétiques des bactéries. Le séquençage des gènes codant pour l'ARNr 16S et surtout des gènes codant l'ARN polymérase B permet en effet une identification très précise de toutes les espèces (Joly et Reynaud, 2002).

3. Habitat

Les *enterobacteriaceae* sont nommées ainsi parce que la plupart des espèces qui composent cette famille sont des hôtes normaux ou pathogènes du tube digestif de l'homme et des animaux. On les trouve aussi dans la cavité buccale, au niveau des voies aériennes supérieures et sur les organes génitaux. Ils peuvent persister en dehors d'organismes vivants, on les

rencontre dans le sol, l'eau et dans certaines denrées alimentaires (Fauchere et Avril, 2002). *Salmonella typhi* qui est responsable de la fièvre typhoïde n'est retrouvée que dans l'intestin de l'homme malade (Joly et Reynaud, 2002).

4. Classification

Une centaine d'espèces d'*Entérobactériaceae* sont individualisées, mais 23 d'entre elles représentent 99% des souches isolées en clinique (Avril et al., 2000).

Les Entérobactéries qui intéressent la bactériologie médicale peuvent être regroupées en quatre tribus :

- . Tribu des *Escherichiae*;
- . Tribu des *Klebsiellae*;
- . Tribu des *Proteae*;
- . Tribu des *Yersiniae* (Carbonnelle et al., 1987).

Ces différentes tribus peuvent être individualisées en genres, ou en sous genres, en espèces, en sérogroupes, en sérotypes.

4.1. Tribu des *Escherichiae*

Ce groupe défini par des caractères négatifs, comprend 4 genres principaux : *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella* et *Citrobacter*. Les genres *Edwardsiella*, *Kluyvera*, *Leclercia*, *Leminorella*, *Moellerella* et *Yokenella* qui possèdent les caractères biochimiques de définition de cette tribu sont rarement retrouvés.

Le genre *Kluyvera* qui possède les caractères biochimiques de définition de cette tribu y est rattaché.

4.1.1. Genre *Escherichia*

Ce genre ne comporte qu'une seule espèce *E. coli* intéressante en bactériologie médicale et qui est l'espèce la plus fréquemment isolée dans le laboratoire de bactériologie. Les autres espèces sont : *E. albertii*, *E. fergusonii*, *E. hermanii*, et *E. vulneris*.

4.1.2. Genre *Shigella*

Ce genre comprend quatre espèces correspondant à quatre séro-groupe A, B, C, D pouvant comporter un ou plusieurs sérotypes : groupe A (*S. dysenteriae*) avec dix sérotypes ; groupe B = *S. flexnerie* avec six sérotypes ; groupe C = *S. boydii* avec quinze sérotypes et groupe D = *S. sonnei* avec un seul sérotype.

4.1.3. Genre *Salmonella*

Il s'agit d'un très vaste groupe bactérien comportant plus de 2000 sous espèces. Ce genre est divisé en cinq sous-genres, le sous genre 1 étant celui isolé le plus souvent chez l'homme. Les autres étant retrouvés chez les animaux à sang froid.

Depuis 2005, une nouvelle nomenclature est en vigueur sur le plan international (Tindall et *al.*, 2005). Elle fait suite aux études moléculaires (hybridations ADN-ADN) qui ont révélé la présence de seulement deux espèces dans le genre *Salmonella* (*S. enterica*, espèce majoritaire et *S. bongori*, espèce rare).

- *S. enterica* est elle-même subdivisée en six sous-espèces : *enterica* (l'ancien sous-genre I de Kauffmann), *salamae* (l'ancien sous-genre II), *arizonae* (les souches monophasiques de l'ancien sous-genre III), *diarizonae* (les souches diphasiques de l'ancien sous-genre III), *houtenae* (l'ancien sous-genre IV) et *indica*.

- L'espèce *bongori* et les différentes sous espèces d'*enterica* sont ensuite subdivisées sur la base du sérotypage en de très nombreux sérotypes (François, 2009).

Du point de vue médical, il convient de distinguer deux grands groupes chez salmonelles : les salmonelles majeures, agents de la fièvre typhoïde et des fièvres paratyphoïdes (*S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *S. paratyphi C*) et tous les autres sérotypes « mineurs » responsables d'intoxications alimentaires, de gastro-entérites ou d'infections septicémiques de type opportuniste.

4.1.4. Genre *Citrobacter*

Ce genre est composé de trois espèces : *C. freundii*, *C. amalonaticus* et *C. diversus*.

4.1.5. Genre *Edwardsiella*

Ce genre ne compte qu'une seule espèce en bactériologie médicale : *E. tarda*.

4.1.6. Genre *Kluyvera*

Il s'agit d'un genre de création récente. Il existerait au moins trois espèces dont deux ont actuellement une dénomination précise : *K. ascorbata*, *K. crycrescens*.

4.2. Tribu des *Klebsiellae*

Cette tribu comporte trois genres *Klebsiella*, *Entérobacter* et *Serratia*.

4.2.1. Genre *Klebsiella*

Ce genre est composé de quatre espèces *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. rhinoscleromatis* et *K. ozenae*.

4.2.2. Genre *Entérobacter*

Il est composé de six espèces : *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. hafniae*, *E. agglomerans*, *E. gergoviae* et *E. sakazakii*.

4.2.3. Genre *Serratia*

Il est composé de cinq espèces : *S. marcescens*, *S. liquefaciens*, *S. rubidea*, *S. plymuthica* et *S. odorifera*.

4.3. Tribu des *Proteae*

Elle comporte actuellement trois genres regroupant six espèces.

. *Proteus* : *P. mirabilis*, *P. vulgaris* et *P. alcalifaciens*.

. *Providencia* : *P. stuartii* et *P. rettgeri*

. *Morganella* : *M. morganii*.

4.4. Tribu des *Yersiniea*

Elle comporte sept espèces : *Y. pestis*, *Y. ruckerii*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. fredericksonii*, *Y. kristensenii*.

5. Caractères bactériologiques

5.1. Caractères morphologiques

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique de type bacilles à Gram négatif de 2-3 μ de long sur 0,6 μ de large, généralement polymorphes.

Les espèces mobiles sont les plus nombreuses grâce à une ciliature péritriche. Certaines sont immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*). La présence d'une capsule visible au microscope est habituelle chez les *Klebsiella*. La plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des fimbriae ou pili qui sont des facteurs d'adhésion (Drame, 2001).

La structure des entérobactéries est montrée dans la figure 1.

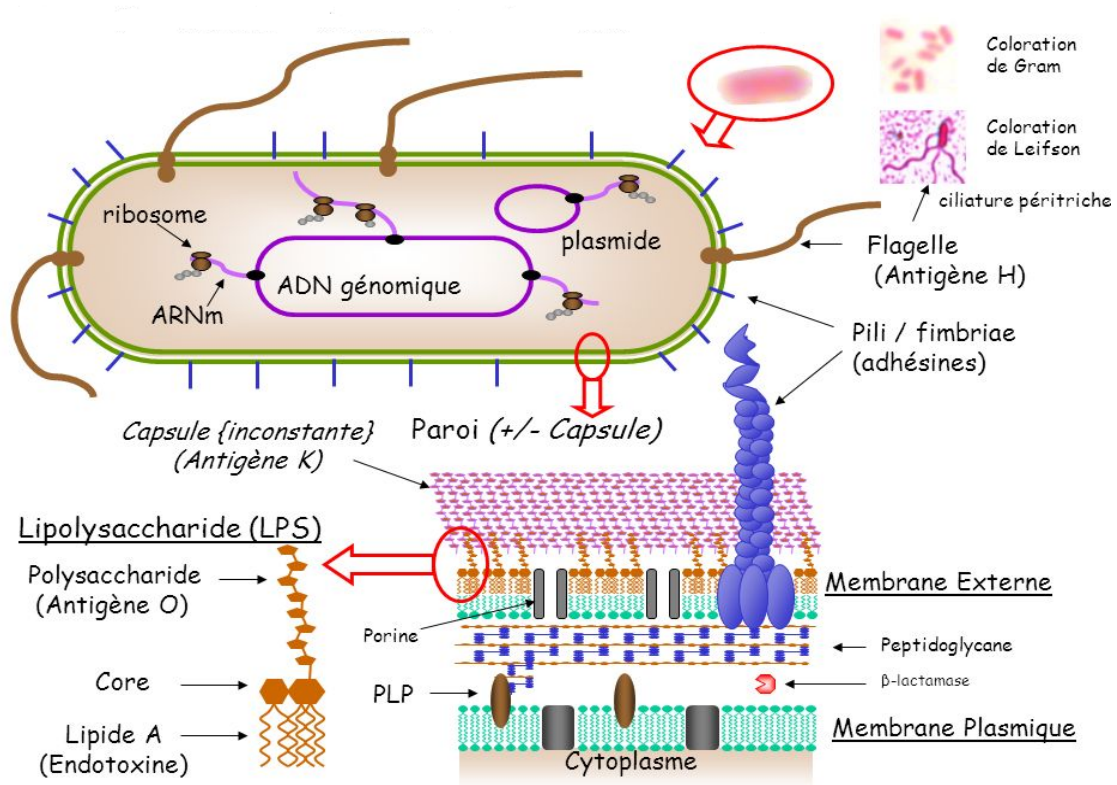


Figure 1 : Structure et aspect microscopique des *Enterobacteriaceae* (Denis et al., 2007)

5.2. Caractères cultureux

La culture des entérobactéries est rapide. Pour la plupart des espèces les colonies formées après 18-24 heures d'incubation à 35-37 °C sont bombées et rondes à bord net, leur surface est lisse et brillante, il s'agit des formes S « smooth ». Après repiquage en bouillon des colonies S, la culture se traduit par un trouble homogène sur toute la hauteur du tube.

Après plusieurs repiquages d'une souche en phase S, les colonies deviennent rugueuses, sèches, plates, leur contour est irrégulier, leur teinte mate, il s'agit des formes R « rough ».

En bouillon elles donnent une culture dont l'aspect est granuleux après agitation et elles forment des agglutinats spontanés qui sédimentent, elles sont auto-agglutinables dans une suspension en eau salée (2 % de NaCl) (Joly et Reynaud, 2002).

Les colonies des bactéries produisant une capsule, notamment de *Klebsiella pneumoniae*, sont muqueuses et plus grandes que les colonies habituelles (leur diamètre peut atteindre 10 mm), elles ont une consistance gélatineuse. Dans le cas des espèces *Proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis* qui sont particulièrement mobiles, il se produit fréquemment un envahissement de la surface des milieux solides qui s'étend par vagues successives et peut gagner en 24 heures la totalité de la surface (Joly et Reynaud, 2002).

Il existe cependant des entérobactéries ayant une croissance faible dont les colonies restent très petites (colonies naines). Il s'agit d'une exigence en un ou plusieurs facteurs de croissance. Pour d'autres bactéries la croissance est lente, les colonies de taille normale ne sont obtenues qu'après plusieurs jours d'incubation, c'est le cas de certaines espèces des genres *Shigella* et *Yersinia*. Pour ces dernières par exemple une incubation d'au moins 48 heures à 37°C est nécessaire (Joly et Reynaud, 2002 ; Bidet et Bingen, 2007).

Les entérobactéries sont des chimio-organotrophes, beaucoup sont prototrophes : à partir d'une source unique de carbone (sucre, ...) et d'énergie (électrons), elles sont capables de synthétiser tous les éléments nécessaires à leur survie et à leur croissance (Avril et al., 2000).

5.3. Caractères biochimiques

L'identification des différents genres et espèces repose sur plusieurs caractères biochimiques (Joly et Reynaud, 2002):

5.3.1 Étude des voies métaboliques de la fermentation des sucres : Les entérobactéries sont des micro-organismes anaérobies facultatifs, c'est-à-dire que leur métabolisme peut être transféré de la respiration vers la fermentation lorsque leur environnement est privé en oxygène moléculaire (conditions anaérobies).

Les deux voies fermentaires essentielles sont :

- Fermentation des acides mixtes, les sucres sont fermentés en acides mixtes. Chez certaines espèces il y a formation de métabolites supplémentaires tels que le gaz carbonique (CO₂), l'hydrogène moléculaire (H₂) et éthanol. Cette voie est notamment empruntée par les genres *Escherichia*, *Salmonella* et *Shigella*. Les bactéries utilisant ce métabolisme sont repérables grâce à la réaction au rouge de méthyle (RM).
- Fermentation butanediolique, la fermentation des sucres se traduit par la production de l'acétoïne. Cette voie est notamment empruntée par les genres *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia*. Les bactéries l'utilisant sont repérables grâce à la réaction de Voges-Proskauer (VP) qui permet la détection spécifique de l'acétoïne.

5.3.2. Fermentation des sucres et des polyalcools : Ce métabolisme est étudié en eau peptonée additionnée d'un indicateur de pH (bleu de bromothymol ou rouge de phénol). La fermentation produit des acides qui entraînent le virage de l'indicateur par acidification.

5.3.3. Production d'un métabolite terminal et recherche d'enzymes : Certaines réactions enzymatiques aboutissent à la production de métabolites qui sont identifiables grâce à une réaction spécifique, par exemple :

- Production d'indole à partir du L-tryptophane grâce à une tryptophanase.
- Production d'hydrogène sulfuré (H₂S) à partir du thiosulfate grâce à une thiosulfate réductase.
- Production de gaz par une hydrogène lyase. Après action des bactéries sur un substrat, l'enzyme impliquée est détectée par la mise en évidence du substrat modifié ou d'un changement de la coloration initiale du milieu de culture, par exemple :

-Bêta-galactosidase révélée par acidification du milieu.

-Décarboxylases de la lysine (LDC) et de l'ornithine (ODC), transformées respectivement en cadavérine et putrescine, décarboxylase (ADC) et dihydrolase (ADH) de l'arginine, révélées par alcalinisation du milieu.

-Désaminases de la phénylalanine (PDA) et du tryptophane par tryptophane désaminase (TDA) qui les transforment respectivement en acide phénylpyruvique et en acide indolpyruvique dont la présence dans le milieu est révélée par le perchlorure de fer qui donne un précipité brun.

-Uréase qui produit à partir de l'urée du carbonate d'ammonium révélé par alcalinisation du milieu.

5.3.4. Culture en utilisant une source de carbone définie : C'est un test d'assimilation, possible seulement avec des bactéries prototrophes. Cette étude permet de rechercher leur capacité à cultiver dans un milieu minimal synthétique dans lequel la substance carbonée est unique et définie. L'utilisation du citrate de sodium comme source de carbone est la recherche la plus courante.

Le diagnostic des quatre tribus qui intéressent la bactériologie médicale se fait sur un nombre limité de caractères (Tableau 1).

Tableau 1 : Composition et caractères différentiels des tribus des *Enterobacteriaceae* (Denis et al., 2007).

Tribus	Escherichiae	Klebsiellae	Proteae	Yersinia
Genres	<i>Escherichia</i> <i>Shigella</i> <i>Salmonella</i> <i>Citrobacter</i> (<i>Levinea</i> *) <i>Edwardsiella</i>	<i>Klebsiella</i> <i>Entérobacter</i> (<i>Hafnia</i> *) <i>Serratia</i>	<i>Proteus</i> <i>Morganella</i> <i>Providencia</i>	<i>Yersinia</i>
Nouveau genre rattaché	<i>Kluyvera</i>	<i>Cedecea</i>	<i>Tatumella</i>	
TDA	-	-	+	-
Uréase	-	d	D	+C
Voges Proskauer à 37°C 22°C	--	- dd	-(b)d	-d
Mobilité à 37°C	d	d	+(b)	+à 22 °c
Sensibilité à la colistine	+(a)	d	-(b)	d
	a = sauf <i>Edwardsiella</i>		b = sauf <i>Tatumella</i>	c = sauf <i>Y.ruckeri</i>
d = différent suivant les genres ou espèces *=synonymes				

L'identification présomptive repose sur la coloration des colonies associée à l'examen direct par coloration de Gram complétée par des tests biochimiques.

5.4. Caractères antigéniques

L'étude des différents caractères antigéniques permet de classer en sérotypes les souches appartenant à une même espèce ou au même genre. La détermination des sérotypes a un grand intérêt épidémiologique pour certaines entérobactéries pathogènes comme *Salmonella*, *Shigella* et *E. coli* (Avril et al., 2000).

Il existe plusieurs types d'antigènes :

- **Antigène commun** : Cet antigène, appelé « antigène de Kunin » est présent chez toutes les entérobactéries sauf certaines *Erwinia*. Il est généralement sous forme hapténique, non immunogène, mais il a cependant la capacité de sensibiliser les hématies. Sa forme immunogène existe chez de rares souches dont *E. coli* O : 14 (Joly et Reynaud, 2002).
- **Antigène O ou somatique** : Cet antigène est localisé au niveau de la paroi bactérienne, de nature lipopolysaccharidique, possède une endotoxine bactérienne qui est thermostable et résiste à l'alcool ou à l'acide. Un immunosérum contenant les anticorps contre l'antigène O provoque une agglutination lente granulaire, difficile à dissocier par agitation. La spécificité O est perdue par les souches R qui sont auto-agglutinables en eau physiologique (Fauchere et Avril, 2002).
- **Antigène H ou flagellaire** : Il n'existe que chez les bactéries mobiles. L'antigène H est constitué de la protéine flagelline, il est thermostable et inactivé par l'alcool. En présence d'anticorps, l'agglutination est floconneuse, lâche et facilement dissociée par agitation (Fauchere et Avril, 2002; Bidet et Bingen, 2007).
- **Antigène K ou capsulaire** : Cet antigène est généralement constitué d'une couche externe polysaccharidique ou protéique. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B d'*E. coli* et l'antigène Vi de certaines *Salmonella* ou *Citrobacter*. Ces antigènes peuvent rendre la souche inagglutinable pour les antisérums O. Ils sont détruits par une ébullition de deux heures. Les antigènes d'adhérences, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (Bidet et Bingen, 2007).

Chapitre II:
Infections dues
aux
entérobactéries
pathogènes

Chapitre II : Infections dues aux entérobactéries pathogènes**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).

1.1. Epidémiologie des infections à *E. coli***1.1.1. Etiologie**

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

1.1.2. 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 leurs descendances 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.

1.1.3. 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 (Gross, 1994 ; Dho-moulin et Fairbrother, 1999).

Les *Escherichia coli* sont très facilement véhiculés par la poussière qui constitue une source importante de contamination en élevage (Oyetunde, 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. La transmission des souches pathogènes via l'œuf est aussi très fréquente et responsable d'un taux important de mortalité chez le jeune poussin. La source majeure d'infection de l'œuf semble être la contamination fécale de sa surface lors de la ponte avec, ensuite, une transmission rapide de la souche pathogène à l'ensemble du lot après l'éclosion (Gross, 1994; Jordan et Pattison, 1996 ; Dho-moulin et Fairbrother, 1999).

1.2. Pathogénie des infections dues aux souches APEC

La voie d'entrée principale de l'agent pathogène est le tractus respiratoire, via l'inhalation de particules de poussière contaminées par des *E. coli* 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).

1.2.1. Facteurs de virulence

1.2.1.1. Adhésines

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

- **Les fimbriae de type 1 ou F1:** Plusieurs variants des fimbriae de type 1 existent chez les APEC et semblent associées aux sérotypes des souches (Dozois et *al.*, 1995). In vivo, les fimbriae de type 1 sont exprimés surtout dans la trachée, les poumons et les sacs aériens. Son expression ne fut jamais observée dans d'autres organes ni dans le sang (Dozois et *al.*, 1994).
- **Les Fimbriae de type P :** La présence des fimbriae de type P est significativement plus fréquente chez les souches isolées de poulets septicémiques que chez des souches isolées de poulets sains (Dozois et *al.*, 1992). Le rôle de cette adhésine n'est cependant 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'autres termes, cette adhésine pourrait jouer un rôle plus tardif dans le processus de l'infection (Dozois et *al.*, 1995; Pourbaksh et *al.*, 1997).

1.2.1.2. Aérobactine

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 fer. 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 *al.*, 1984; Lafont et *al.*, 1987; Emery et *al.*, 1992).

1.2.1.3. Résistance au sérum

La résistance à l'effet bactéricide APEC 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).

1.2.1.4. Toxines

Quelques études ont démontré que les souches sont capables de produire des toxines pouvant être impliquées dans le processus pathogénique. ECVF ou l' "*Escherichia coli vacuolating factor*", toxine ressemblant à la toxine VacA d'*Helicobacter pylori*, décrit chez une trentaine de souches aviaires pathogènes (Salvadori et *al.*, 2001).

1.2.1.5. Hémagglutination

Récemment, il a été montré que le gène *tsh* isolé d'une souche APEC de poulet et localisé sur un plasmide codant pour une hémagglutinine sensible à la température, est associé préférentiellement à ces souches et ne se retrouve pas chez des souches d'*E. coli* isolées de fèces d'animaux sains (Provence et Curtiss III, 1994).

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

1.2.1.6. 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).

1.2.1.7. 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).

1.2.1.8. 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).

1.3. 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.

Les dernières études réalisées montrent que les plus présents 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 (Bree et al., 1989 ; Dho-moulin et al., 1990 ; Babai et al., 1997 ; Blanco et al., 1997 ; Dho-moulin et Fairbrother, 1999).

1.4. Tableau clinique et lésion des infections aviaires à *E. coli*

1.4.1. Expressions cliniques

1.4.1.1. 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 (Yogarathnam, 1995 ; Elfadil et al., 1996).

La contamination se fait par voie respiratoire et est secondaire à une infection à mycoplasmes (*Mycoplasma gallisepticum*), à une virose à tropisme respiratoire (bronchite infectieuse) ou immunosuppressive (maladie de Gumboro), à un accident de vaccination ou à une

concentration trop élevée en agents irritants dans l'air (poussière ou ammoniac) (Oyetunde et al., 1978; Nakamura et al., 1992).

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).

1.4.1.2. 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^{ème} semaine et les conséquences les plus importantes sont des retards de croissance qui résultent de l'infection et entraînent des pertes économiques conséquentes.

1.4.1.3. 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 (Gross, 1994).

Cet aspect de la colibacillose, rencontré de plus en plus fréquemment, n'est pas à négliger. Toutefois, il semblerait que la transmission de la bactérie au poussin, via les ovaires ou les oviductes infectés, ne constitue pas une voie majeure de l'infection de la vésicule vitelline à la naissance (Jordan et Pattison, 1996).

1.4.1.4. 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).

1.4.1.5. 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.

1.4.1.6. 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).

1.4.1.7. 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).

1.4.2. Lésions**1.4.2.1. 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 épaississement du tissu et un dépôt de fibrine. Ce dépôt est parfois tellement important que la surface de l'organe prend l'aspect d'une crêpe (Jordan et Pattison, 1996).

1.4.2.2. 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).

1.4.2.3. Arthrites et les synovites

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

1.4.2.4. Swollen head disease

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

1.4.2.5. 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).

1.4.2.6. Granulomes à *Escherichia coli* " Hjarres's disease "

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. (Stordeur et Mainil, 2002).

1.5. 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 périhépatite 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 β -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.

1.5.1. Le diagnostic différentiel :

Les différentes formes et lésions associées précédemment décrites ne sont pas spécifiques aux colibacilloses. En effet, d'autres agents pathogènes peuvent induire des signes cliniques et lésions similaires notamment :

- Les aérosacculites dues à d'autres bactéries, *mycoplasmes*, ou *chlamydies* ;
- Les péricardites dues aux *chlamydies* et *pasteurelles* ;
- Les périhépatites dues aux *Pasteurelles* et, *Streptocoques* ;
- Les septicémies dues aux *Pasteurelles*, *Salmonelles*, *Streptocoques* et autres.

1.6. Traitement

A l'heure actuelle, celui-ci repose encore essentiellement sur l'antibiothérapie. Les antibiotiques les plus utilisés sont les sulfamidés, les bêta-lactamines, et les quinolones. Toutefois, il faut rester prudent quant à l'utilisation des antibiotiques car de récentes études menées sur une collection de 1600 souches APEC (*Chaslus-dancla, communication personnelle, Projet Européen Fair 6-CT98-4093*) ont montré que le nombre de souches résistantes à ces divers antibiotiques allait en s'accroissant; il est donc plus que jamais nécessaire de réaliser un antibiogramme avant ou en parallèle au traitement empirique. Des traitements alternatifs aux antibiotiques existent aussi, comme l'acide ascorbique qui contribue à intensifier l'activité des phagocytes.

1.7. Prophylaxie

1.7.1. Prophylaxie sanitaire

Il s'agit de contrôler les contaminations environnementales en réduisant au maximum les facteurs prédisposants aux infections respiratoires par :

- Le contrôle du taux d'humidité, de la ventilation, de la teneur en poussière et en ammoniac dans l'air des bâtiments.
- La destruction des rongeurs, des insectes, et des parasites.
- La surveillance de la qualité de l'eau de boisson.
- Le nettoyage, la désinfection, et le vide sanitaire entre chaque lot.
- La fumigation des œufs 2 heures après la ponte. (Gross, 1994).
- La garantie d'animaux indemnes de mycoplasmes.

1.7.2. 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.

2. Infections à *Salmonella*

2.1. Salmonelloses aviaires

Les salmonelloses sont des maladies infectieuses, contagieuses, transmissibles à l'homme et à diverses espèces animales, dues à la présence d'un germe du genre *Salmonella* de la famille des *Enterobacteriaceae* (Lecoanet, 1992).

La salmonellose a été identifiée dans de nombreux pays, mais semble être plus fréquente dans les zones d'élevage intensives, particulièrement dans les élevages de volaille.

Chez la volaille comme chez l'homme, il existe des différences fondamentales dans les relations hôtes – bactéries, la salmonellose peut aller d'une maladie fatale à un portage sain (Bell et *al.*, 2002).

2.2. Épidémiologie des infections à *Salmonella*

2.2.1. Étiologie

L'agent étiologique de la salmonellose est la bactérie *Salmonella enterica*.

2.2.2. Mode de contamination de la volaille

La contamination de la volaille peut se faire par deux voies : la voie verticale et la voie horizontale.

2.2.2.1. Transmission verticale

Elle résulte d'une infection de l'ovaire ou de l'oviducte de la pondeuse par un sérotype adapté de salmonelles. C'est essentiellement *S. Enteritidis* et plus rarement *S. Typhimurium*, *Heidelberg*, *Hadar*, qui ne se traduit pas nécessairement par des signes cliniques, mais par un décrochement de la courbe de ponte suivi d'un rattrapage rapide. Les salmonelles colonisent les milieux intérieurs de l'œuf. Les poussins issus de ces œufs infectés sont viables et éclosent infectés par la souche de salmonelles d'origine maternelle (Carlier et *al.*, 2001; Van immerseel et *al.*, 2005; Lieljebjelke et *al.*, 2005).

2.2.2.2. Transmission horizontale

Elle peut débiter dès le couvoir, où les œufs sont contaminés au niveau des coquilles à la ponte, sans pénétrer dans l'œuf, mais persiste sur la cuticule. Le poussin est infecté dès

l'éclosion par contact avec la coquille infectée. De plus, dans les claies des couvoirs, une inter contamination par création et diffusion d'un aérosol contaminé est prouvée (Gradel et *al.*, 2003; Skov et *al.*, 2004).

Les pratiques de gestion dans toute la filière volaille ont un effet profond sur la transmission et la persistance des salmonelles dans les systèmes de production de la volaille (Lieljebjelke et *al.*, 2005).

C'est aussi le cas des modes de transmission par la litière, l'eau, l'alimentation, les nuisibles, le personnel, etc...(Carlier et *al.*, 2001).

2.2.3. Distribution environnementale

Le réservoir des bactéries du genre *Salmonella* est principalement le tube digestif des vertébrés. De très nombreuses espèces animales hébergent ces agents pathogènes (volailles, bovins, porcs, poissons, reptiles, etc.).

La source principale est bien sûr l'animal malade ou porteur qui excrète les bactéries, que ce soit en couvoir, en élevage ou en abattoir, qui propage le germe par les excréments ou par les œufs infectés.

La contamination de l'environnement par les *salmonelles* est une évidence; Ces germes peuvent être retrouvés à peu près partout: déjections animales, sols, les points d'eau, effluents, animaux sauvages, et domestiques, flore sauvage etc. Il suffit de les chercher pour les mettre en évidence (Weill, 2009).

2.3. Pathogénie et virulence

2.3.1. Pathogénie

La pathogénèse de *Salmonella* débute par l'ingestion orale de la bactérie. L'environnement des oiseaux est la source habituelle de cette transmission. L'aliment ainsi que l'eau contaminé sont les plus importantes sources d'infections à *Salmonella* chez la volaille (Cox et *al.*, 1991 ; Heyndrickx et *al.*, 2002).

Une fois attachée, *Salmonella* stimule son absorption par les différents types de cellules épithéliales intestinales en utilisant un système de sécrétion du type III codé par l'îlot de pathogénicité numéro 1 (*Salmonella Pathogenicity Island, SPI-1*) de l'agent pathogène *Salmonella* (Darwin et Miller, 1999; Zhou et Galman, 2001). Il s'agit de la phase d'invasion de la pathogénèse. Chez la volaille, cela se produit principalement dans le caecum (Desmidt et *al.*, 1997 ; 1998). Les bactéries s'attachent à la paroi caecale par des interactions de type récepteur-ligand.

Dans un deuxième temps, l'invasion des cellules épithéliales de l'intestin s'établit par la production des cytokines pro-inflammatoires (Kaiser, 1994 ; Klasing, 1998). Ces protéines codées par le SPI-1 attirent les granulocytes hétérophiles et les macrophages du système immunitaire de l'hôte. Les bactéries de *Salmonella* sont ingérées et phagocytées, et passent ainsi à travers la muqueuse caecale, et sont capables de survivre et de se répliquer dans les macrophages. Cette étape nécessite également un système de sécrétion de type II codé par SPI-2, permettant la propagation des macrophages infectés, et les bactéries sont en mesure d'atteindre d'autres organes internes tels que le foie, la rate, et le tractus génital (Barrow et Lovell, 1991 ; Barrow, 1999). Il s'agit de la phase systémique de l'infection. Une fois que l'infection systémique s'est établie, la mort rapide de la cellule hôte constituerait un désavantage pour la bactérie. A ce stade, la bactérie demeure dans une niche intracellulaire et retarde la mort cellulaire afin d'avoir plus de temps pour se multiplier dans la cellule hôte et atteindre d'autres organes et tissus de l'hôte (Jesenberger et *al.*, 2000).

2.3.2. Facteurs de virulence

Ces facteurs de virulence regroupent les adhésines, l'invasion et la colonisation de l'organisme, la survie et la capacité de multiplication intracellulaire (les macrophages), le système de captation du fer, la survie dans le sérum et les toxines.

2.4. Tableau clinique et lésionnel

Dans la plupart des cas, les volailles sont des porteurs sains où la maladie évolue sous forme chronique et les salmonelles excrétées de façon intermittente (Rostagno et *al.*, 2006).

Les infections aviaires causées par le sérovar *Pullorum*, responsable de la pullorose, et *Gallinarum*, responsable de la typhose, sont des maladies graves avec une forte morbidité et de mortalité dans les troupeaux (Shivaprasad, 2003).

La pullorose est une salmonellose aiguë touchant les jeunes poussins, due à *S. Pullorum*. L'infection a lieu soit in-ovo, soit après l'éclosion. La maladie se traduit par une atteinte plus ou moins importante de l'état général associée à une diarrhée blanche, crayeuse et collante. Des formes subaiguës ou chroniques peuvent également subvenir, avec des atteintes localisées.

Chez les très jeunes poussins, il y a développement d'une septicémie rapide qui peut causer une très forte mortalité avec peu ou pas de lésions. Quand le cours de la maladie est plus long ou infection à certains sérotypes, on a parfois l'apparition de sévères entérites accompagnées de foyers nécrotiques de la muqueuse de l'intestin grêle. Les caecums, la rate et le foie sont

congestionnés (foie bronzé après oxydation à l'air) et tuméfiés avec des suffusions hémorragiques ou des foyers nécrotiques. Les reins sont parfois tuméfiés et congestionnés.

On peut également observer des péricardites, des omphalites, des lésions génitales dégénératives et des inflammations pulmonaires, des ovaires et des oviductes (Gast, 2003).

La typhose est une salmonellose aiguë touchant uniquement les adultes, qui est due à *S.Gallinarum*. Elle est caractérisée par une augmentation rapide de la mortalité et l'apparition des symptômes grave. Celle-ci se traduit par une importante atteinte de l'état général, une cyanose des appendices, une diarrhée verdâtre et hémorragique, une atteinte respiratoire et parfois des symptômes nerveux. Des formes chroniques peuvent également subvenir, et sont généralement la conséquence d'une pullorose.

Les lésions sont caractérisées dans les formes foudroyantes par des suffusions de sang dans tous les organes tandis que dans les formes habituelles, nous ne remarquons l'hypertrophie et la congestion que sur le foie et la rate qui sont aussi siège de nécrose. En plus, le foie est parsemé de larges bandes rougeâtres et jaunâtres quelquefois avec une couleur vert bronzé caractéristique (Villate, 1997).

2.5. Diagnostic

Le diagnostic repose essentiellement sur l'isolement et l'identification de l'agent étiologique. Il peut faire appel à différentes méthodes (Euzéby, 1997).

2.5.1. Méthodes bactériologiques

Utilisables dans tous les cas et sur tous les types de prélèvements, mais restent mieux adaptées à la mise en évidence des infections aiguës, systémiques qu'à la recherche des infections chroniques de l'adulte, où le germe, localisé à l'état latent au niveau des gonades, du foie ou de la rate mais rare dans l'intestin, n'est excrété que de façon intermittente, rendant aléatoires les tentatives d'isolement à partir d'écouvillonnage cloacaux ou de litière (Lecaonet, 1992).

L'identification se fera à partir du sang du cœur, du foie, de la rate, du rein, du vitellus et du cerveau (Villate, 1997).

Les prélèvements sont ensemencés en milieux appropriés d'enrichissement (Muller Kaufman, sélénite et cystine, tétrathionate additionné de novobiocine, Rappaport) et d'isolement (gélose Hecktoen, gélose lactosé de Mac Conkey, gélose SS, gélose au vert brillant ou au désoxycholate, gélose lactosé au BCP) (Villate, 1997).

L'identification biochimique ou Biotype : Repose sur la mise en évidence des caractères biochimiques différentiels permettant de classer les souches selon leurs activité métabolique par l'utilisation de sucre et /ou leur activité enzymatique (Lecoanet, 1992 ; Humbert, 1998).

L'identification sérologique ou sérotypage : C'est le résultat de multiples combinaisons des antigènes somatiques O, capsulaires Vi et flagellaires H (Brisabois, 2001).

La classification repose d'abord sur l'appartenance à des groupes antigéniques (groupe O2, O4, O9) puis au sein de chacun d'entre eux ; selon les antigènes flagellaires de la phase 1 et de la sous espèce *Enterica* (Avril et Eaucher, 2002).

La lysotypie : Basée sur l'étude de la sensibilité ou de la résistance d'une souche à une série de macrophages sélectionnés (Clinquart et *al.*, 2004).

L'antibiotype : Etudie la réponse bactérienne aux antibiotiques (Regnault, 2002).

La bactériocinotypie : Repose sur la recherche de la population de bactériocines ou de la sensibilité à ceux-ci. Son application reste réservée car très peu de souches produisent la colicine (Millemann, 1998).

2.5.2. Méthodes sérologiques

Permettant la mise en évidence des anticorps agglutinants par agglutination rapide sur lame (ARL) ou la microagglutination lente en tube (MAL) nécessitant une mise au point d'antigène standardisés mais fournissent un pourcentage variable de résultats faussement positifs ou faussement négatifs (Bouthy et *al.*, 1988).

2.5.3. Méthodes histologiques

Permettant de compléter et d'améliorer un examen bactériologique infructueux par l'administration de traitement ou additif (antibiotiques), en mettant en évidence, notamment au niveau du foie, des lésions caractéristiques de l'infection salmonellique (Lecoanet, 1992).

2.5.4. Méthodes de caractérisation des souches de *salmonella* : Ce sont des méthodes qui basent sur l'étude du matériel génomique de la cellule bactérienne par l'utilisation de marqueurs génotypiques (Beraud, 2001). Elles permettent l'analyse de l'ADN total chromosomique ou plasmidique.

2.6. Traitement

L'efficacité de la médication par les antibiotiques pour traiter et prévenir les infections à *salmonelles* ubiquitaires est le sujet d'importants débats; en effet l'utilisation des antibiotiques a montré l'efficacité pour contrôler l'évolution des salmonelles mais l'utilisation anarchique est souvent à l'origine de graves problèmes de résistance bactérienne et ainsi d'une plus grande

dissémination pendant des temps plus allongés de la part des volailles ; mais cette approche thérapeutique n'est qu'un complément de la prophylaxie sanitaire.

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.*, 1997)

Il est toujours recommandé d'utiliser les antibiotiques avec parcimonie, au bon moment, à la bonne dose et pendant une durée appropriée.

2.7. Prophylaxie

2.7.1. Prophylaxie médicale

La prophylaxie médicale est basée sur :

- Les additifs Alimentaires anti-*Salmonella* (l'acidification de l'eau de boisson, les prébiotiques exemple: Les fructo-oligosaccharides (Van immerseel et *al.*, 2005), et les probiotiques) ;
- L'antibio- prévention ;
- La vaccination.

2.7.2. Prophylaxie sanitaire

Les barrières sanitaires représentées par les mesures générales d'hygiène sont les premiers éléments à mettre en place avant l'emploi des procédés spécifiquement adaptés à la lutte contre le danger *Salmonella* ou tout traitement (Carlier et Lagrange, 2001). Les mesures à prendre sont :

- Clôture et isolement strict des élevages ;
- Désinfection et vide sanitaire entre bandes successives (Van immerseel et *al.*, 2005) ;
- Propreté de l'environnement immédiat en évitant l'épandage de litière à proximité des élevages ;
- Evacuation des salissures vers des fosses septiques ou réseaux d'eau usée ;
- Dératisation et désinsectisation ;
- La propreté et le lavage des mains, le changement et désinfection des bottes sont essentiels pour la protection des bâtiments d'élevages (Bell et Kyriakides, 2002).

Chapitre III:
Antibiotiques et
antibiorésistance

Chapitre III : Antibiotiques et antibiorésistance

1. Antibiotiques

1.1. Définition

Agents antibactériens synthétiques et/ou semi-synthétiques. Le mot antibiotique fut créé en 1889 par Paul Vuillemin. Un antibiotique est un dérivé produit par le métabolisme de micro-organismes possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte.

Cette notion a été étendue aux molécules obtenues par hémisynthèse (Bryskier, 1999).

1.2. Critère de classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- L'origine : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)
- Le mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques
- Le spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)
- La nature chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémisynthèse. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.) (Yala et *al.*, 2001).

1.3. Mode d'action

- ❖ Action sur la paroi bactérienne (peptidoglycane) ;
- ❖ Action sur la structure de la membrane cytoplasmique bactérienne ;
- ❖ Action sur la synthèse protéique bactérienne ;
- ❖ Action sur la synthèse de l'ADN de la bactérie ;
- ❖ Action sur la synthèse des folates (Yala et *al.*, 2001).

La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques de la bactérie. Chaque famille d'antibiotique possède son site d'action propre (figure2).

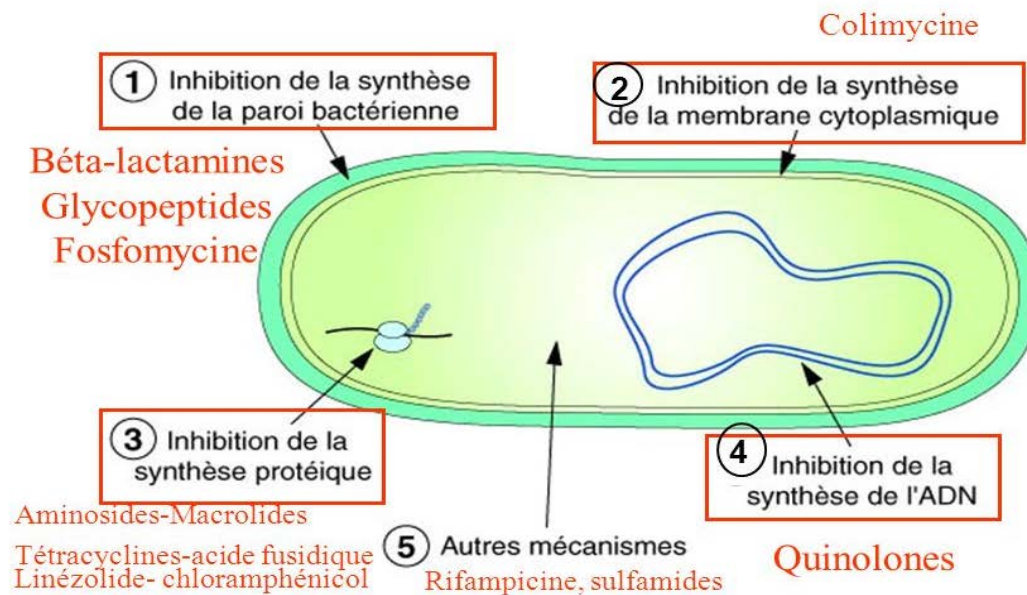


Figure 2 : mode d'action des antibiotiques (www.bacteriologie.net)

1.4. 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 anticoccidienne 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).

2. Résistance bactérienne aux antibiotiques

2.1. Définitions

Il existe différentes définitions de la résistance bactérienne dans la littérature. En effet, selon la discipline considérée, l'approche de la résistance et son expression ne sont pas tout à fait les mêmes (AFSSA, 2006) :

- Pour le clinicien, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si le traitement n'est pas efficace ;
- Pour le pharmacologue, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si les concentrations atteintes au site d'action, sont inférieures à la concentration minimale inhibitrice ;
- Pour le microbiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle dispose d'un mécanisme de résistance augmentant la valeur de la concentration minimale inhibitrice ;
- Pour l'épidémiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle a une concentration minimale inhibitrice significativement différente de celle de la population normale.

La diversité de ces définitions est importante à prendre en compte car elle influence les motivations de lutte contre l'antibiorésistance. Elle joue aussi sur la ligne directrice à donner afin que la majorité des acteurs se sente concernée. (AFSSA, 2006).

Une définition consensuelle de Ferron reprend les différentes priorités mises en avant par les chercheurs, scientifiques et praticiens.

Cette définition indique qu'« une bactérie est résistante à un antibiotique lorsqu'elle supporte des concentrations inhibitrices de cet antibiotique supérieures aux concentrations que l'on peut obtenir dans l'organisme sans atteindre les doses toxiques » (Ferron, 1994).

2.2. Types de résistance

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise.

2.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou la résistance intrinsèque est une caractéristique propre à une espèce bactérienne sur laquelle l'antibiotique est inactif par défaut de cible ou d'accès à la cible. Pour la Société Française de Microbiologie (SFM), la résistance naturelle se traduit par des concentrations minimales inhibitrices (CMI) supérieures à la concentration critique supérieure des tests de sensibilité pour l'antibiotique concerné.

Cette caractéristique est partagée par toutes les souches bactériennes d'une espèce ou d'un genre bactérien. Par exemple, *Salmonella* a des résistances naturelles aux classes d'antimicrobiens suivantes : les polypeptides (bacitracine), les lincosamides (clindamycine), les macrolides (érythromycine) (Schwartz et *al.*, 2006), les streptogramines (quinupristine/dalfopristin) et les glycopeptides (vancomycine) (Guardabassi et Kruse, 2008). Généralement le support de cette résistance est chromosomique.

Ceci peut être dû à l'absence de la cible (l'absence de paroi chez les mycoplasmes rendant les bêta-lactamines inactives vis à vis de ces bactéries) ou encore à l'absence de pénétration de l'antibiotique.

2.2.2. Résistance par acquisition de l'ADN exogène

La résistance par acquisition d'ADN, peut être la conséquence d'un transfert horizontal, y compris entre espèces éloignées phylogénétiquement. Le transfert de ces gènes sera plus efficace après leur intégration sur des éléments mobiles tels que les plasmides, les transposons, les intégrons ou encore sur des phages (Rowe-magnus et Mazel, 2001).

La résistance croisée correspond à une résistance conférée par un seul gène de résistance et entraîne la résistance à plusieurs molécules d'antibiotiques appartenant à la même famille ou à des familles différentes.

Dans la co-résistance, plusieurs gènes de résistance à différentes molécules ou familles d'antibiotiques sont associés chez la même bactérie au sein d'une structure génétique comme les transposons, les plasmides ou les intégrons. Chacun des mécanismes confère à la bactérie un large spectre de résistance (Soussy et *al.*, 2007).

2.3. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques

2.3.1. Diminution de la pénétration ou augmentation de l'excrétion d'un antibiotique

Ce genre de mécanisme dépend de la perméabilité de la membrane externe de la bactérie. Cette perméabilité de la membrane dépend principalement du lipopolysaccharide (LPS) et des porines ancrées dans cette membrane. Le LPS est très compacte en profondeur grâce à ses acides gras insaturés et formés de structures hydrophiles grâce à ses charges électriques de surface. Cette organisation explique une résistance naturelle aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée, tels que les macrolides. Quant aux molécules hydrophiles, elles doivent passer la couche de LPS à travers des porines ou des transporteurs actifs plus ou moins spécifiques.

La diminution ou le caractère non fonctionnel de ces porines (par exemple après mutation chromosomique) rendent la bactérie beaucoup moins sensible par une diminution de la

diffusion. Ce mécanisme se retrouve essentiellement chez les entérobactéries et les *Pseudomonas*.

2.3.2. Système d'efflux

Cet efflux empêche ainsi la concentration intracellulaire de l'antibiotique d'atteindre un niveau d'action, ce qui empêche son action. Le système d'efflux actif est efficace grâce aux protéines transmembranaires ancrées dans la membrane plasmique mais également dans la membrane externe des bactéries Gram négatif (Walsh, 2003). Ces protéines sont spécifiques d'une classe d'antibiotiques ou au contraire responsables de « multidrug resistance » (MDR) de certaines bactéries, leur conférant une résistance simultanée à plusieurs classes d'antibiotiques.

2.3.3. Modification de la cible

Une mutation peut induire une modification de la cible de l'antibiotique utilisé, son efficacité sera ainsi réduite, et permettra de ce fait à la bactérie de continuer à se diviser. On retrouve ce phénomène pour de nombreuses familles d'antibiotiques tel que les quinolones ou la résistance est due à des mutations dans les gènes codant permettant la bactérie résistante de synthétiser une ADN gyrase moins sensible (Bryskier, 1999).

2.3.4. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Certaines enzymes synthétisées sont capables de dégrader la molécule d'antibiotique en réduisant son efficacité ou la rendant inactive. Il s'agit du système de résistance le plus fréquemment rencontré. Ce phénomène est décrit contre les β -lactamines, les aminosides et le chloramphénicol (tableau 2). Dans le cas des β -lactamines, 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.

On peut distinguer des pénicillinases, ayant un support génétique essentiellement plasmidique et donc très répandues, et des céphalosporinases généralement chromosomiques et spécifiques d'espèces.

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

Tableau 2: Les mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques (Li et Nikaido, 2004)

Antibiotique	Cible bactérienne	Mécanismes de résistance			
		Mécanismes de résistance	Modification de cible	Imperméabilité cellulaire	Efflux actif
Inhibition de la synthèse de la paroi (peptidoglycane)					
β-lactamines	PLP	+++	++	++	++
Glycopeptides	Précurseurs D-Ala-D-Ala		+++		
Inhibition de la synthèse protéique					
Aminosides	ARN ribosomal 30S	+++	++	+	+
MLS	ARN ribosomal 50S	+	+++		++
Tétracyclines	ARN ribosomal 30S		++		+++
Phénicolés	ARN ribosomal 30S	++			++
Oxazolidinones	ARN ribosomal 30S		++		
Inhibition de la synthèse ou de fonctionnement de l'ADN					
Fluoroquinolones	Topoisomérase s		+++		++
Sulfamides	DHFS		++		+
Triméthoprimes	DHFR		++		+

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 co-habitanes de même espèce ou d'espèces différentes.
- elles peuvent concerner plusieurs antibiotiques ou plusieurs familles d'antibiotiques et peuvent entraîner des multi-résistances.

2.4.2.1. Plasmides

Les plasmides sont des structures d'ADN extrachromosomal double brin, mobiles, et circulaires. Ils sont de taille variable allant de quelques kilobases (kb) à 500 kb et peuvent être isolés autant chez les bactéries pathogènes que chez les bactéries de la flore normale de l'hôte (Schwartz et Chaslus-danclas, 2001).

Les plasmides peuvent se répliquer de façon autonome puisqu'ils possèdent des systèmes de réplication. Ils sont le support génétique de nombreuses propriétés comme des fonctions métaboliques, la résistance aux antibiotiques, aux désinfectants, aux métaux lourds et aux toxines bactériennes. Une bactérie peut contenir plus d'un plasmide, elle peut les intégrer dans un autre plasmide ou dans le chromosome, en partie ou au complet ou bien par un vecteur pour les transposons et les intégrons.

2.4.2.2. 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 intramoléculaire), 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.

2.4.2.3. 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, c'est la transmission verticale. Ils peuvent aussi être disséminés par le transfert horizontal, c'est le principal mécanisme responsable de la dissémination des gènes de résistance au sein du monde bactérien et concerne (80 %) (Bennett, 2008). Pour cela, il nécessite la présence de supports génétiques autonomes capables de se répliquer et de s'exprimer dans la cellule réceptrice. Le transfert horizontal comprend trois grandes classes de mécanismes : la transformation, la conjugaison et la transduction (Jain et *al.*, 2002).

La figure 3 représente le schéma montrant les 3 modèles du transfert horizontal de la résistance bactérienne.

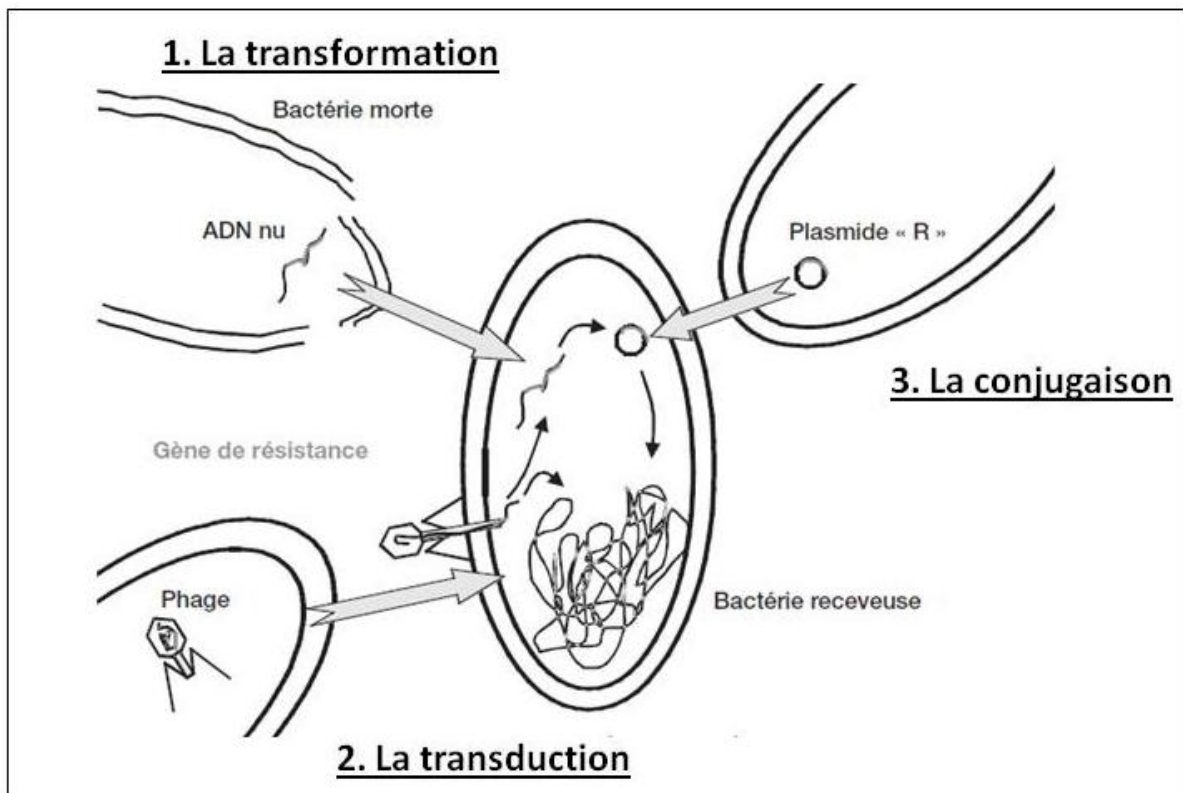


Figure 3 : Les trois voies de transmission des résistances bactériennes (AFSSA, 2006)

2.5.1. Conjugaison

Il s'agit du mécanisme de transmission le plus important et le plus fréquemment rencontré (Alanis, 2005). La conjugaison est le transfert de matériel génétique d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice via un contact cellule-cellule et un système de transfert codé par les gènes localisés sur le chromosome, sur les plasmides et sur les transposons conjugatifs.

Le transfert se produit par l'intermédiaire d'un pont cytoplasmique ouvert qui relie les deux bactéries impliquées dans l'échange, et delà l'ADN transféré reste protégé des éléments de l'environnement qui pourraient le dégrader. Ce mécanisme peut s'effectuer entre bactéries de la même espèce, au sein d'un même genre ou parfois entre bactéries de genres différents d'où son efficacité. L'importance de la conjugaison dans la dispersion des gènes de résistance est bien établie chez les *Entérobacteriaceae* telle que *Salmonella* (Helmuth, 2000).

2.5.2. Transformation ou compétence naturelle

La transformation est un mécanisme par lequel la bactérie peut acquérir et intégrer de l'ADN libre présent dans le milieu externe. C'est un réarrangement de séquences d'ADN échangées entre deux bactéries.

Elle peut s'effectuer entre deux espèces bactériennes différentes. Ces espèces bactériennes sont capables au cours de leur cycle cellulaire de présenter un état physiologique (état de compétence) nécessaire à la fixation et l'absorption d'ADN étranger. Dans la bactérie réceptrice, l'ADN exogène subit une recombinaison génétique afin d'être intégré de façon stable au génome et d'être transmis aux cellules filles.

2.5.3. Transduction

La transduction est un processus par lequel le matériel génétique peut être transféré d'une espèce à une autre via des bactériophages (Schwartz et al., 2006). La quantité d'ADN à transférer est limitée par la taille du phage et les phages sont parfois restreints à un hôte en particulier (Ochman et al., 2000). Il existe deux types de transduction : la transduction généralisée et la transduction spécialisée.

La transduction généralisée a lieu au cours du cycle lytique d'un phage virulent ou tempéré et transfert n'importe quelle partie du génome bactérien (Davison, 1999).

Dans la transduction spécialisée ou restreinte, la particule transductrice ne porte que certaines parties spécifiques du génome. Elle résulte d'une erreur dans le cycle lysogène. Ainsi seuls les gènes proches du site d'intégration du prophage peuvent être encapsidés et transférés à une autre bactérie.

2.6. Résistance des entérobactéries aux β -lactamines

2.6.1. Généralités sur les β -lactamines

Les β -lactamines sont les antibiotiques les plus utilisés dans la pratique clinique courante (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006) surtout dans le traitement des infections dues aux entérobactéries (Zogheib et Dupont, 2005). Ce nom est dû au fait que tous les membres de cette classe portent une fonction lactame en position β (figure 4).

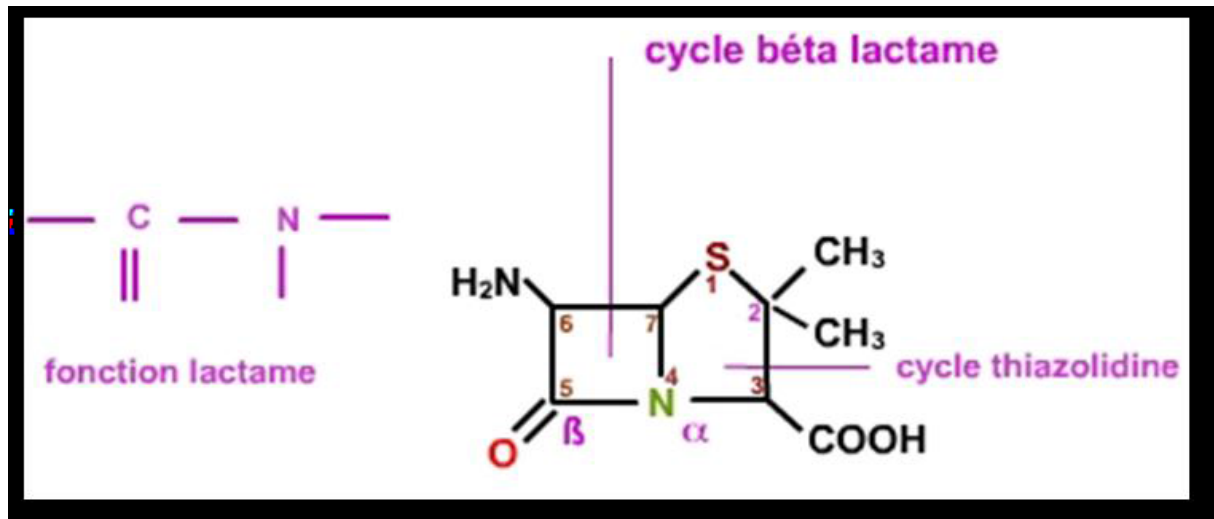


Figure 4 : Cycle β -lactame (Bessard, 2004)

La famille des β -lactamines comprend 4 groupes majeurs Les pénèmes, les pénèmes, les céphèmes et les monobactames (figure 5).

2.6.1.1. Les pénèmes (Les pénicillines)

La structure des pénicillines est constituée de trois parties : un noyau thiazolidine fixé sur un cycle azétidinone et d'une chaîne latérale en C-6 qui permet de les différencier.

(Bryskier, 1999).Ce groupe comprend 4 sous-groupe :

- **Pénicilline G et V (naturelles):** Actives sur les bactéries Gram positif et les coques à Gram négatif.
- **Groupe A (aminopénicillines):** Ampicilline et Amoxicilline spectre élargi, orienté sur certains bacilles à Gram négatif mais inactivées par les pénicillinases y compris celle du staphylocoque, inactives sur les bacilles à Gram négatif naturellement producteurs de céphalosporinases comme certaines entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*.
- **Carboxypénicillines:** (Ticarcilline, carbénicilline) spectre élargie sur les bacilles Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa* (Cavallo et al., 2004).

- **Uréidopénicillines:** leur spectre d'activité regroupe la plupart des souches d'entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* (Botto, 2003).
- **Oxapénames ou clavames :** l'amoxicilline+l'acide clavulanique : utilisés comme inhibiteur de β -lactamases en association avec une autre β -lactamine (amoxicilline ou ticarcilline+acide clavulanique) (Cavallo et al., 2004).

2.6.1.2. Les pénèmes (les carbapénèmes)

Quatre molécules sont actuellement commercialisées : L'imipénème depuis 1986, le méropénème depuis 1997, l'ertapénème depuis 2002 et le doripénème commercialisé en France en mars 2009 (Grall et al., 2011). Ce sont des antibiotiques bactéricides. Possèdent un large spectre antibactérien incluant les bactéries à Gram négatif (Entérobactéries) ; Gram positif, sauf les staphylocoques et les entérocoques. Les carbapénèmes se distinguent des pénicillines (pénames) par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1 et d'une liaison insaturée en C2-C3 (Wolff et al., 2008).

2.6.1.3. Les céphèmes (les céphalosporines)

- **Les céphalosporines de première génération (C1G) :**

Elles comprennent céfalotine, céfazoline et la céfapirine. Elles sont hydrolysées facilement par les β -lactamases acquises. Leur spectre d'activité regroupe les cocci à Gram positif, essentiellement les streptocoques et les staphylocoques sensibles à la méthicilline et à quelques entérobactéries ne produisant pas de céphalosporinase inductible comme *E.coli*, les salmonelles ou *Klebsiella spp* (Cavallo et al., 2004).

- **Les céphalosporines de deuxième génération (C2G):**

Elles comprennent céfamandole et céfuroxime (Jarlier et Nordmann, 2000), sont plus stables à l'hydrolyse de plusieurs types de β -lactamases, leur spectre d'activité regroupe les bactéries à Gram positif, à Gram négatif et les souches productrices de β -lactamases (Bryskier, 1999).

- **Les céphalosporines de troisième génération (C3G) :**

Elles comprennent céfotaxime et céftriaxone. Les C3G se caractérisent par leur stabilité à la plupart des β -lactamases comme les pénicillinases de type TEM ou les céphalosporinases chromosomiques des entérobactéries comme *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (Cavallo et al., 2004).

- **Les céphalosporines de quatrième génération (C4G) :** (céfépime, céfpirome) ;

Elles présentent une meilleure résistance à l'hydrolyse par les céphalosporines hyperproduites (Cavallo et al., 2004).

2.6.1.4. Les monobactames : (L'aztréonam et le carumonam) :

Elles constituent le groupe le plus récent des β -lactamines, ces antibiotiques se caractérisent par une structure monocyclique (hétérocycle azétidinone) (Bryskier, 1999).

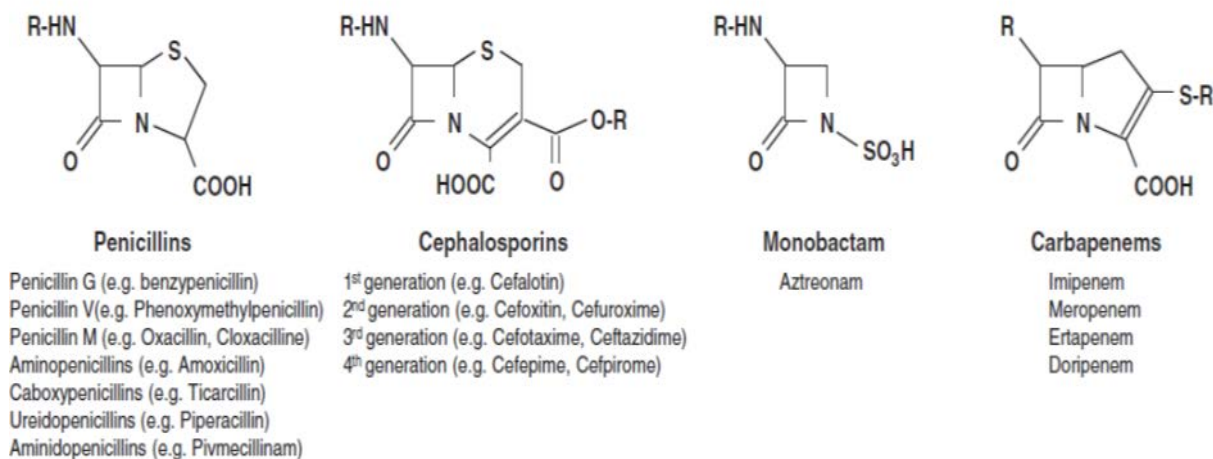


Figure 5 : Structure moléculaire des β -lactamines (Nordmann et *al.*, 2012)

2.6.2. Types de résistance aux β -lactamines

Les entérobactéries sont soit naturellement sensibles aux β -lactamines (exemple: *Escherichia coli*), soit elles sont naturellement résistantes (exemple : les *Klebsiella sp* sont toujours résistantes à l'ampicilline), soit elles ont une résistance acquise (Vora et Auckenthaler, 2009).

2.6.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle est due à la présence de gènes chromosomiques communs à toutes les bactéries d'une même espèce et transmise à la descendance. La résistance naturelle détermine les phénotypes « Sauvages » des espèces bactériennes vis-à-vis des antibiotiques (Mayer et *al.*, 2000).

Chez les entérobactéries, la plupart des espèces produisent naturellement des β -lactamases chromosomiques soit de classe A (*Klebsiella spp.*, *Citrobacter koseri*, *Escherichia hermanii*...), soit de classe C (*Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*...), voire les deux types d'enzymes (*Yersinia enterocolitica*) (Livermor, 1995).

L'expression phénotypique de ces enzymes peut-être constitutive ou inductible par les β -lactamines elles mêmes. On constate un phénotype de résistance de pénicillinase de bas

niveau inclut les espèces possédant une pénicillinase chromosomique constitutive (Zogheib et Dupont, 2005), exprimée à bas niveau chez *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Citrobacter koseri*, *Raoultella planticola*, *R. ornithinolytica*, *R. terrigena*, *Escherichia hermanii*, *C. gillenii*, qui est caractérisé par une résistance aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines.

Les espèces *E. coli* et *Shigella* possèdent un gène *ampC* codant pour une céphalosporinase de la classe C d'Ambler donc résistante aux inhibiteurs. Elle est exprimée de manière constitutive à très bas niveau, avec une sensibilité à toutes les β -lactamines testées ou une sensibilité intermédiaire aux céphalosporines de première génération et/ou aux aminopénicillines avec et sans inhibiteurs.

Des espèces d'entérobactéries, comme par exemple *Proteus vulgaris*, *P. penneri* possèdent une céfuroximase inductible. D'autres comme *Enterobacter cloacae*, *E.aerogenes*, *E. asburiae*, *Serratia marcescens*, *C. freundii*, *C. braakii*, *C. youngae*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *P. stuartii*, *Hafnia alvei* et *Pantoea agglomerans* possèdent une céphalosporinase inductible, leur conférant une résistance aux aminopénicillines, aux céphalosporines de première génération et à l'action de l'acide clavulanique (Robin et al., 2012).

2.6.2.2. Résistance acquise

Ce terme est utilisé pour désigner des processus permettant à des bactéries appartenant à une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques. Cette résistance acquise peut provenir d'une mutation chromosomique (plutôt rare) (Chopra et al., 2003) ou par l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides (plutôt fréquent), de bactériophages ou de transposons (Davies, 1997). On parle de transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation. Les plasmides et les transposons déterminent la résistance aux antibiotiques de nombreuses β -lactamases.

Une β -lactamase spécifique à une bactérie peut apparaître chez d'autres espèces par la suite, au vu de ces mécanismes de transfert relativement facile de matériel génétique. Comme l'acquisition des nouvelles familles de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) qui ont été décrites plus récemment à différentes espèces d'entérobactéries : CTX-M, OXA, SFO-1, GES1, etc (Bradford, 2001), et sont distribuées de façon inégale dans le monde.

2.6.3. Mécanismes de résistance aux β -lactamines

De manière générale, les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux β -lactamines : il peut s'agir de troubles de perméabilité pour les antibiotiques,

ce qui empêche la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie, de systèmes d'efflux qui permettent d'évacuer les antibiotiques qui auraient pénétré dans la bactérie, ou de modification de la cible bactérienne de l'antibiotique. Mais le plus fréquemment, il s'agit d'enzymes détruisant les β -lactamines, les β -lactamases (Vora et Auckenthaler, 2009).

2.6.3.1. Imperméabilité par altération de porines

La pénétration des β -lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe s'effectue à travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau. Ainsi, la sensibilité aux β -lactamines dépend du nombre de porines fonctionnelles. L'altération des porines par mutation est à l'origine de résistances acquises aux β -lactamines, soit par une modification structurale d'une porine essentielle, ce qui a été décrit chez *E. coli*, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente (Kumar et Schweizer, 2005).

2.6.3.2. Modifications de protéines de liaison des pénicillines (PLP)

Une perte d'affinité de PLP ou une diminution de la quantité de PLP. Chez les entérobactéries, des souches de *Proteus mirabilis* résistantes à l'imipénème et au mécilinam ont été observées suite à une perte d'affinité de la PLP2 et à une diminution de la quantité de PLP1 (Grall et al., 2011).

2.6.3.3. Pompe à efflux

Le système d'efflux actif est efficace grâce aux protéines transmembranaires ancrées dans la membrane plasmique mais également dans la membrane externe des bactéries Gram négatif (Walsh, 2003). Des mutations dans les régions régulatrices des opérons des systèmes d'efflux multi-drogues peuvent conduire à une surexpression des systèmes d'efflux constitutifs, associée ou non à une perte des porines, et conférer une multirésistance aux antibiotiques. L'implication des systèmes d'efflux dans la résistance aux β -lactamines a été clairement identifiée dans plusieurs études en particulier chez *K. pneumoniae*. Cependant ce type de mécanisme touchant préférentiellement la céfoxitine et les C2G semble difficile à distinguer du point de vue phénotypique des résistances par modification des porines (Robin et al., 2012).

2.6.3.4. Production de β -lactamases

Chez les entérobactéries, la production de β -lactamases est le mécanisme prédominant de résistance aux β -lactamines (Livermor, 2003).

i. Définition de β -lactamases

Les β -lactamases ont été identifiées en 1940 par Abraham et Chain, qui ont mis en évidence

une enzyme capable d'empêcher l'action de la pénicilline chez *E. coli* ; ils la nommèrent pénicillinase (Abraham et Chain, 1940).

Les β -lactamases sont des enzymes hydrolysant les β -lactamines en ouvrant le cycle bêtalactame et menant à la perte d'un groupement carboxyle, provoquant l'inactivation de l'antibiotique en question (Ambler, 1980). Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace périplasmique chez les bactéries Gram négatif (Medeiros, 1984).

ii. Mode d'action

Les β -lactamases catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse du pont amide de l'anneau β -lactame des pénicillines, des céphalosporines, des monobactames et des carbapénèmes ; pour donner un acylenzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (Figure 6). Ainsi, les pénicillines sont dégradées en acide pénicilloïque et les céphalosporines en acide céphalosporoïque (Medeiros, 1984).

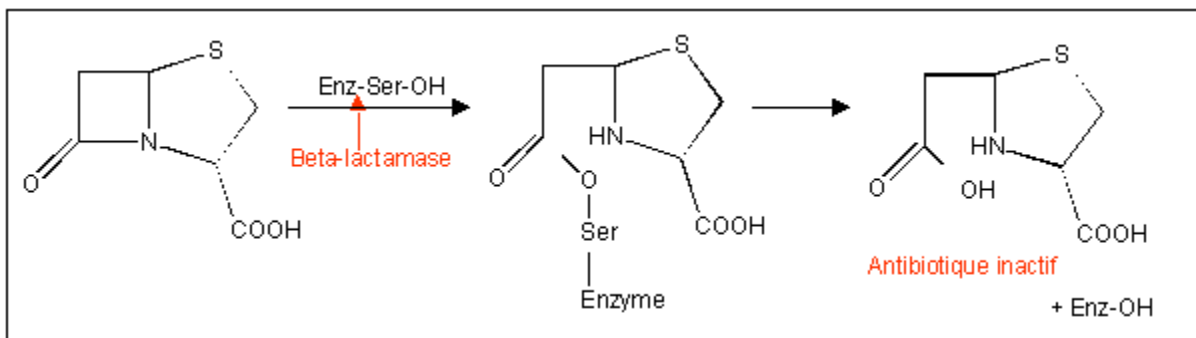


Figure 6 : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame (Barrial et Scotet, 2006)

iii. Classification des β -lactamases

Les β -lactamases sont des enzymes d'une extrême diversité. Plus de 400 β -lactamases dont plus de 200 BLSE sont décrites. Généralement, les β -lactamases sont classées suivant deux schémas :

- la classification fonctionnelle de Bush-Jacoby-Mediros qui est fondé sur les propriétés fonctionnelles des enzymes (Rodriguez et *al.*, 2006).
- la classification moléculaire d'Ambler qui est basée sur l'homologie de séquence des acides aminés. Cette nomenclature se compose de quatre groupes, soit les β -lactamases de classe A, B, C et D. Les enzymes de classe A, C et D sont dites à sérine active tandis que celles de classe B sont appelées métallo- β -lactamases (carbapénèmases) (Jacoby et Munoz-price, 2005).

Classe A

Les principaux représentants de cette classe sont les β -lactamases de type TEM, SHV et CTX-M. Ces enzymes sont caractérisées par une résistance à haut niveau aux pénicillines et par une sensibilité à l'acide clavulanique et le tazobactam (inhibiteurs de β -lactamases (figure 7)) (Arlet et Philippon, 2003).

Classe B

Cette classe des β -lactamases est composée par des métallo-enzymes dont le site actif contient un ion zinc, résistantes à l'acide clavulanique mais inhibées par l'EDTA. Ces enzymes sont généralement actives contre les carbapénèmes et contre d'autres β -lactamines (Grall et al., 2011).

Classe C

Les enzymes de cette classe, peuvent être divisés en 2 groupes : les β -lactamases chromosomiques AmpC et les β -lactamases plasmidiques.

Les β -lactamases AmpC sont capables d'hydrolyser les céphalosporines y compris les céphamycines (céfoxitine), les pénicillines, mais pas le céfépime. Ces β -lactamases sont résistantes aux inhibiteurs de β -lactamases (Rodriguez et al., 2006). Les représentants de ce groupe sont les enzymes de types AmpC, FOX, ACT, CMY (Arlet et Philippon, 2003).

Ces enzymes confèrent aux bactéries productrices une forte résistance aux céphalosporines de première génération et à un degré variable aux céphalosporines de deuxième génération (Bryskier, 1999).

Classe D

La classe D regroupe les β -lactamases appelées (oxacillinasés) ou OXA (Szarecka et al., 2011). Ces β -lactamases sont peut-être inhibées par l'acide clavulanique. Dans cette classe, on retrouve les β -lactamases qui hydrolysent la cloxacilline (Grall et al., 2011).

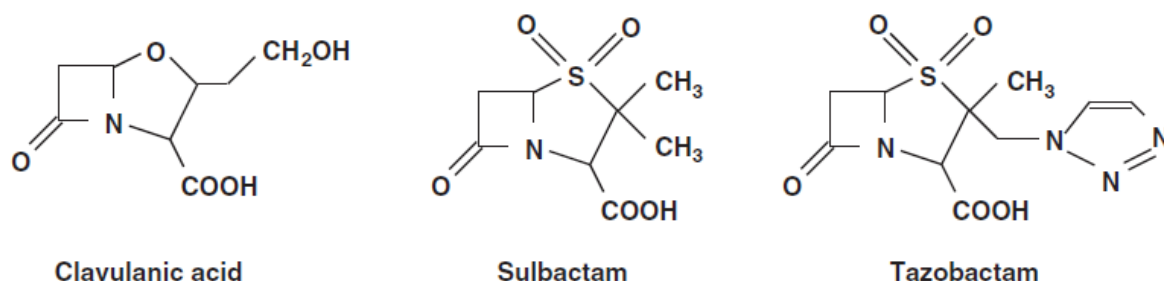


Figure 7 : Structure moléculaire des inhibiteurs de β -lactamases (Nordmann et al., 2012)

2.7. Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

2.7.1. Définition

Les BLSE ont été décrites pour la première fois en 1983, en Allemagne (Knothe *et al.*, 1983), il n'y a pas de consensus concernant la définition de β -lactamases à spectre étendu (BLSE).

Classiquement, les BLSE sont définies comme des enzymes appartenant à la classe A (à l'exception des BLSE de type OXA classe D) de la classification d'Ambler, capables d'hydrolyser les pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (céfépime ou cefpirome) et l'aztréonam. Elles sont inhibées *in vitro* par les inhibiteurs des β -lactamases (acide clavulanique, tazobactam et sulbactam) (Livermore, 1995). Par contre, les BLSE sont sensibles aux céphamycines (céfotétan et cefoxitine) ainsi qu'aux carbapénèmes. Une co-résistance avec les aminosides, les tétracyclines et les fluoroquinolones est fréquente. Les bactéries possédant des BLSE sont dites multirésistantes (Paterson et Bonomo, 2005).

Il s'agit d'un mécanisme de résistance de type plasmidique, et donc transmissible à d'autres bactéries. La présence de ce -type de mécanisme de résistance au sein de souches pathogènes fait peser un risque majeur d'inadéquation thérapeutique et donc d'échec thérapeutique (Schwaber et Carmeli, 2007), et est également un facteur de diffusion.

Au sein des entérobactéries, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont les deux espèces les plus fréquemment porteuses de ces mécanismes de résistance.

2.7.2. Différents types de BLSE

Elles sont classées selon leurs types moléculaires, les plus fréquents étant les types TEM, SHV, CTX-M (Jacoby et Munoz-price, 2005).

2.7.2.1. BLSE de type TEM (Temoneira - nom du patient)

La première β -lactamase plasmidique de type TEM (TEM-1) a été isolée en 1965, en Grèce, à partir d'une souche d'*E. coli* isolée chez une patiente nommée « Temoneira », d'où la nomination (Datta et Kontomichalou, 1965).

La majorité des BLSE de ce type dérivent par quatre à sept mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1 ou TEM-2). Les substitutions les plus courantes sont le glutamate en lysine en position 104, l'arginine en sérine en position 164, la glycine en sérine en position 238 et le glutamate en lysine en position 240 (Bradford, 2001).

Ces mutations rendent l'enzyme capable d'hydrolyser les C3G, mais aussi plus vulnérable à l'action des inhibiteurs (acide clavulanique). Cependant, d'autres mutations peuvent conférer la résistance aux inhibiteurs. Ces variantes sont appelées TRI (TEM résistantes aux

inhibiteurs). Les enzymes dérivées par mutations permettant d'hydrolyser à la fois les C3G et les inhibiteurs sont de plus en plus fréquentes (Rodriguez-villalobos et Struelens, 2006).

2.7.2.2. BLSE de type SHV (Sulphydryl variable)

Les enzymes BLSE de type SHV dérivent par mutations ponctuelles de l'enzyme originale SHV-1 qui correspond à un gène *blashv* de pénicillinase chromosomique de *K. pneumoniae* (Brisse et Verhoef, 2001 ; Haeggman et al., 2004).

La majorité des BLSE de type SHV ont été décrites chez les souches de *K.pneumoniae*, toutefois ces enzymes ont été trouvées chez *Citrobacter freundii*, *C. diversus*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae* (Bradford, 2001). Ainsi, ces enzymes sont aussi présentes chez les espèces de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp* (Naiemi et al., 2005) ; la présence de la séquence d'insertion IS26 sur le gène SHV faciliterait l'acquisition du phénotype BLSE (Hammond et al., 2005).

2.7.2.3. BLSE de type CTX-M (Céfotaximase-Munich)

Les BLSE de type CTX-M ont été décrites initialement en 1986 (FEC-1) au Japon, Allemagne et France en 1989 (CTXM-1) et ont depuis lors disséminé largement dans le monde (Thomson et Moland, 2000). Ces « nouvelles » enzymes représentent à l'heure actuelle les BLSE les plus fréquentes au niveau mondial après leur diffusion rapide depuis les années 90 (Bonnet, 2004 ; Livermore et al., 2007).

Le groupe CTX-M (pour céfotaximase) conférait à l'origine, chez les entérobactéries, un plus haut niveau de résistance au céfotaxime (ou ceftriaxone), céfépime et aztréonam qu'à la ceftazidime (Arlet et Philippon, 2003 ; Bonnet, 2004). Les CTX-M sont plus fortement inhibées par le tazobactam que par l'acide clavulanique.

Les analyses génétiques ont montré que les gènes progéniteurs appartiennent au genre *Kluyvera*, entérobactéries d'isolement très rare en bactériologie médicale (Bonnet, 2004 ; Humeniuk et al., 2002). La β -lactamase naturelle de *Kluyvera cryocrescens* (KLUC-1) présente 95 à 100 % d'identité avec les enzymes plasmidiques du phylum CTX-M-1 (Decousser et al., 2001).

La dissémination horizontale des gènes codant pour les enzymes CTX-M s'effectue via des plasmides conjugatifs mais aussi via d'autres éléments génétiques comme les intégrons et les séquences d'insertion ISEcp1 (Bradford, 2001).

2.7.2.4. Autres types de BLSE

D'autres BLSE ont une distribution moins large, caractérisées par un haut niveau de résistance à la ceftazidime et parfois à l'aztréonam plutôt qu'au céfotaxime (Arlet et Philippon, 2003 ; Bradford, 2001), qui sont individualisées en BES-1 (*brazilian extended*

spectrum), GES-1 (*Guyana extended spectrum*), PER-1 (*Pseudomonas extended resistance*) (Weldhagen et al., 2003), SFO-1 (*Serratia fonticola*), TLA-1 (Tlahuicas, tribu mexicaine), et VEB-1 (*Vietnam extended spectrum*). Des enzymes proches de GES-1 ont été découvertes en Grèce, malheureusement dénommées à tort IBC (*integron borne cephalosporinase*) (IBC-1, IBC-2) (Philippon et Arlet, 2006). En fin, l'OXA-1 qui a une grande activité catalytique pour la cloxacilline, l'oxacilline et la méticilline.

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 plus de préoccupations avec la présence de souches pathogènes multi-résistantes (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).

Partie
expérimentale

*Matériel et
méthodes*

I. Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Localisation des sites de l'étude

L'étude s'est déroulée au niveau du service de bactériologie médicale du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem qui appartient au réseau de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques en Algérie. (Ministère de l'agriculture et du développement rural et de la pêche). La partie de la confirmation de l'identification des souches BLSE par la spectrométrie de masse (MALDI –TOF MS) a été faite au niveau du laboratoire de microbiologie du département vétérinaire de l'université de Messine, Italie.

1.2. Population étudiée et durée de l'expérimentation

Les prélèvements reçus au service de bactériologie médicale du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem provenaient d'élevages avicoles à vocation chair et ponte (fermes étatiques et privées) dans le but d'effectuer des analyses dans le cas de la suspicion de la salmonellose aviaire et parfois pour effectuer des antibiogrammes.

Notre travail a porté sur des prélèvements provenant de six régions : Mostaganem, Mascara, Relizane, Chlef, Tiaret et Tissemsilt.

Les prélèvements sont parvenus au laboratoire suite aux demandes d'analyses rédigées par les vétérinaires officiels appartenant aux inspections vétérinaires des six wilayas citées ci-dessus.

La période de cette étude expérimentale s'étalait entre Avril et Octobre 2016.

1.3. Nature des échantillons

Quatre types de prélèvements ont été reçus au niveau du service de bactériologie médicale du laboratoire :

1.3.1. Prélèvements de surfaces

Les prélèvements, par écouvillonnage, ont été effectués avant l'arrivée des poussins et pour toutes les mises en place, afin d'évaluer la qualité de la désinfection réalisée.

Trois écouvillons (sol, murs, matériel) ont été effectués par prélèvement.

1.3.2. Sujets

Prélèvement systématique de dix à trente sujets vivants par bâtiment dans le cas de poussins et cinq à dix sujets vivants dans le cas de poulet, selon la capacité du bâtiment d'élevage (conformément à la note N° 787 du 08/11/2004, MADR, relative au renforcement du contrôle vétérinaire en aviculture).

1.3.3. Œufs à couver

Prélèvement de trente œufs par bâtiment.

1.3.4. Fientes

Prélevées dans des tubes stériles et acheminés au laboratoire dans les brefs délais.

1.4. Matériel de laboratoire

* Hotte à flux laminaire : Angelatoni life science, Loc simacool 1,4, 6406056 Masca Martana (Italie) ;

*Densitomètre : MF- Units, Biosan, LV-1067, Riga, (Lettonie) ;

* Agitateur type vortex : Bohemia, New York 11716 (USA);

*Incubateur : Memmert, 01 porte 1081, (France) ;

*Distributeur des disques d'antibiotiques : Bio-Rad (France) ;

*Microscope : Axiostar plus, (France).

*Spectromètre de masse MALDI-TOF MS: VITEK® MS, Bio Mérieux, France.

1.5. Milieux de culture**1.5.1. Milieux de culture solide**

*Gélose Hecktoen (HK): milieu d'isolement des entérobactéries (Institut pasteur d'Alger);

*Bromocrésol pourpre (BCP) : milieu d'isolement des entérobactéries (Institut pasteur d'Alger) ;

*Mac Conkey : milieu d'isolement des bactéries lactose + (Biochemica, Espagne) ;

*Mueller Hinton Agar : milieu utilisé pour l'antibiogramme (Laboratoire Conda S.A, Madrid, Espagne) ;

*Gélose de Sven Gard (Institut pasteur d'Alger).

1.5.2. Milieux de culture liquide

*Bouillon sélénite cystine (SFB) (Institut pasteur d'Alger);

*Eau peptonée tamponnée (EPT) (Liofilchem, s.r.l. Bactriology products, Italy);

*Eau physiologique (0,9%) (Institut pasteur d'Alger).

1.6. Tests biochimiques

*Galerie API20E (Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, France);

* Galerie classique (TSI (triple sugar Iron), citrate de simmons, milieu Mannitol-Mobilité, urée-indole, Clark et Lubs, ONPG, LDC et ADH) ;

*Disques d'oxydase, (Arcomex, Jordan) : utilisés pour la recherche de la production d'oxydase;

*Les réactifs (Institut pasteur d'Alger) :

- Kovac's, (utilisé pour la recherche de la production d'indole) ;
- TDA (Tryptophane Désaminase) ;
- VP1 , VP2 (Voges-Proskauer 1 et 2).

* Les anti-sérum de sérotypage des salmonelles, polyvalents et monovalents anti O et anti H : (Biorad, France).

1.7. Disques d'antibiotiques

Bio-Rad (France), Hemida (Hind).

2. Méthodes

2.1. Diagnostic nécropsique

- Les autopsies ont été réalisées au niveau de la salle d'autopsie du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem.

2.2. Diagnostic de laboratoire

Après examen externe, les sujets ont été autopsiés. Les organes prélevés sont placés dans des boîtes de pétri et acheminés au service de bactériologie médical.

Les prélèvements ont été réalisés aseptiquement et clairement identifiés. La nature des prélèvements effectués variait selon l'âge des animaux prélevés (tableau 3).

Tableau 3 : Nature des prélèvements effectués selon l'âge de l'animal

Age	Organes prélevés
Sujets jeunes (poussins)	Sac vitellin, foie, rate et cœur
Sujets adultes	Foie, rate et cœur

2.2.1. Méthodes d'isolement et d'identification des entérobactéries

La méthode d'isolement et d'identification des entérobactéries a été faite selon le protocole de la recherche des salmonelles. Cette méthode était inspirée de la méthode française de routine NF U 47-101 de Novembre 2007 qui a remplacé la norme homologuée NF U 47-101 de Février 2005, et comporte les étapes suivantes:

2.2.1.1. Phases d'isolement

L'isolement a été effectué par les étapes suivantes :

i. Etape de pré-enrichissement

Après cautérisation de la surface, 1g de prélèvement d'organe broyé a été plongé dans 10 ml d'eau peptonée tamponnée (EPT), laissé pour revivification à température ambiante pendant 30 mn puis incubé à 37°C pendant 18 à 20 h.

ii. Etape d'enrichissement

1 ml du pré enrichissement est transféré pour enrichissement, dans 20 ml de bouillon sélénite cystine (SFB) et incubé pendant 18 à 24 h à 37°C.

iii. Etape d'isolement

Le lendemain, après homogénéisation, 0,1 ml de la suspension estensemencée dans une boîte de gélose Hecktoen pour les salmonelles et de bromocrésol pourpre pour les autres entérobactéries et étuvées à 37°C pendant 18 à 24 h.

L'isolement des entérobactéries a obéi à un protocole opératoire quasi-identique à celui des salmonelles, décrit plus haut. Néanmoins, la phase de pré-enrichissement n'est pas nécessaire à l'isolement des autres entérobactéries.

2.2.1.2. Phase d'identification

i. Identification morphologique

- Sur le plan macroscopique : la forme et la couleur des colonies sont décrites dans les annexes 10 et 11.
- Sur le plan microscopique : L'identification est basée sur l'observation microscopique de bacilles Gram- après coloration différentielle de Gram (annexe 12). Ces entérobactéries se présentent sous l'aspect de petits bâtonnets (2 à 3 µm par 0,6 à 0,8 µm) présentant une ciliature péritriche.

La phase d'identification morphologique des entérobactéries est complétée par le test d'oxydase (annexe 6). Toutes les colonies qui sont Gram – et oxydase – seront identifiées par les galeries biochimiques.

ii. Identification biochimique

Pour l'identification des entérobactéries, on a disposé de deux types de galeries (annexes 8 et 9):

- La galerie classique d'identification des entérobactéries (204 souches);
- La galerie API 20^E(50 souches).

NB : En plus de la galerie classique et la galerie API 20E, l'identification par la spectrométrie de masse (MALDI –TOF MS) a été utilisée juste pour les souches productrices de BLSE à titre de confirmation.

Galerie classique d'identification des entérobactéries

L'identification des entérobactéries se fait sur la base de caractères biochimiques.

Elle est composée de 8 milieux :

Le milieu TSI (Tri- Sugar Iron Medium) : Ce milieu permet la lecture de cinq caractères :

- . Fermentation du glucose ;
- . Fermentation du lactose ;
- . Fermentation du saccharose ;

. Production d'hydrogène sulfuré ;

. Production de gaz.

Le milieu mannitol-mobilité : Permet de lire :

. Utilisation du mannitol par le germe ;

. Mobilité.

Le milieu citrate de simons : Permet de lire l'utilisation du citrate par le germe.

Le milieu urée-indole: Permet de lire :

. La possession d'une uréase par le germe ;

. La possession d'un tryptophane désaminase par le germe, en présence de chlorure ferrique.

Le milieu Clark et Lubs : Permet l'étude des produits de fermentation du glucose: différenciation entre les fermentations des acides mixtes (test RM : rouge de méthyle) et butylène glycolique (test VP : Voges-Proskauer).

Le milieu ONPG (Ortho-Nitrophényl- β -galactoside): Permet la recherche de l'enzyme du métabolisme du lactose (β -galactosidase) qui est exprimé par une coloration jaune du milieu.

Le milieu LDC: Pour la mise en évidence d'une lysine décarboxylase.

Le milieu ADH: Pour la mise en évidence d'une Arginine-dihydrolase.

Galerie API 20 E

Des systèmes API 20E ont été utilisés afin de déterminer les caractéristiques biochimiques de certaines souches. Le système API se présente sous la forme d'une bande de plastique (annexe 8 et 9) avec 20 microcupules contenant des substrats déshydratés pouvant permettre la détection de certains caractères biochimiques qui sont :

- Fermentation des carbohydrates : glucose, mannitol, inositol, sorbitol, rhamnose, saccharose, mélibiose, amylase et arabinose ;

- Décarboxylation des acides aminés : lysine, ornithine et arginine ;

- Hydrolyse de l'urée ;

- Formation d'indole, la production d'acétone ;

- Hydrolyse de la gélatine ;

- Hydrolyse de l'ONPG.

Technique

On réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide et on place la galerie dans la boîte d'incubation.

- On prélève quelques colonies et on prépare une suspension bactérienne dans l'eau distillée stérile.
- On remplit les tubes et cupules des tests CIT, VIP et GEL avec la suspension bactérienne et on remplit uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- On réalise une anaérobiose dans les tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.
- On referme la boîte d'incubation qu'on incube à 37°C pendant 24H.
- Après incubation, on note sur la fiche de résultat, toutes les réactions spontanées (des virages de couleurs).
- La révélation des trois TDA, VP et indole est faite par l'ajout des réactifs nécessaires (TDA, VP1, VP2 et Kovac's).
- L'identification est obtenue à l'aide d'un code obtenu après la lecture de la galerie qui est ensuite interprété grâce à un catalogue analytique ou manuel API Profile Index.

2.2.2. Sérotypage des salmonelles

Le sérotypage des salmonelles a été effectué par agglutination sur lame à l'aide d'une culture fraîche des salmonelles et des sérums appropriés. Il a d'abord été vérifié que les isolats n'étaient pas en phase rugueuse (Rough: R.) ou auto agglutinables, en observant qu'aucune agglutination n'apparaissait en les mélangeant à une goutte d'eau physiologique.

Les sérotypes étaient déterminés en utilisant d'abord les sérums O polyvalents : OMA, OMB, OMC, OMD, OME, OMF et OMG puis par les sérums monovalents anti O et enfin par les sérums anti H (HMA, HMB, HMC et H1) En pratique, les sérums polyvalents OMA et OMB permettent de déterminer 99 % des souches de *Salmonella*. L'utilisation des sérums monovalents anti-O permet de préciser le groupe auquel appartient la salmonelle, et le sérum anti H pour la précision du sérotype. (annexe 7).

Enfin le tableau de Kaufmann-White, est utilisé pour la détermination de la formule antigénique et la lecture des résultats du sérotypage.

2.2.3. L'identification par la spectrométrie de masse (MALDI –TOF MS) : (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight).

Est une technique qui permet l'identification des microorganismes par analyse de leur contenu protéique. La première utilisation de la spectrométrie de masse pour l'identification des bactéries date de 1975 (Anhalt et *al.*, 1975). Cette méthode analyse le déplacement

d'entités ioniques dans des champs électromagnétiques. Un mélange matrice-échantillon co - cristallisé sur une surface métallique ou cible est soumis au tir d'un faisceau laser permettant sa désorption et son ionisation. Le temps de vol de ces ions obtenus à partir de bactéries entières est mesuré et permet l'obtention d'un spectre de masse. Parmi les nombreux pics produits, les principaux correspondent à des protéines ribosomales et semblent spécifiques d'espèce.

Le temps de vol des espèces ioniques et les spectres de masse ainsi obtenus sont analysés grâce au logiciel Biotyper 2.0 (Bruker Daltonics) dans le contexte d'une identification microbienne. Cette identification étant basée sur la comparaison de la position, la fréquence et l'intensité des pics du spectre de masse inconnu avec tous les spectres typiques enregistrés dans la banque de données d'empreintes spectrales de souches de référence (annexe 14).

2.3. Antibiogramme

L'étude des profils de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées a été effectuée par l'établissement d'antibiogramme réalisé selon la méthode recommandée par l'OMS et répondant aux critères définis par le CLSI et standardisées depuis 1999 en médecine vétérinaire en Algérie (OMS, 2014).

2.3.1. Principe

C'est la méthode par diffusion sur gélose. Des disques imprégnés d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé nutritif préalablement inoculé avec une dilution calibrée avec la bactérie à tester. Au cours de l'incubation (pendant 18 à 24 H à 35°C) les antibiotiques se diffusent dans la gélose et inhibent la croissance de la bactérie à tester. Il en résulte la formation d'une zone annulaire transparente autour des disques d'antibiotiques. Quatorze antibiotiques appartenant à huit familles différentes ont été testés (Tableau 4). Le choix de ces antibiotiques a été fait selon les recommandations du CLSI (OMS, 2014).

Tableau 4 : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme

Famille	Antibiotique	Sigle	Charge du disque (µg)	Origine
Pénicillines	Ampicilline	AMP	10	Bio-Rad(France)
	Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	10	Bio-Rad(France)
	Céfotaxime /Ceftiofur	CTX/XNL	30	Bio-Rad(France)

Céphalosporines	Céphalotine	CEF	30	Bio-Rad(France)
Aminosides	Néomycine	N	30	Bio-Rad(France)
	Gentamycine	CN	10	Bio-Rad(France)
Sulfamides	Triméthoprime+sulfaméthoxasole	SXT	1,25/23,75	Bio-Rad(France)
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30	Bio-Rad(France)
Quinolones	Acide nalidixique	NA	30	Bio-Rad(France)
	Enrofloxacin	ENR	5	Bio-Rad(France)
	Norfloxacin	NX	5	Hemida (Hind)
Polypeptides	Colistine	CT	10	Bio-Rad(France)
Furanes	Nitrofurantoine	FT	300	Bio-Rad(France)
Phénicolés	Chloramphénicol	C	30	Bio-Rad(France)

2.3.2. Mode opératoire

- **Inoculum**

A partir d'une culture pure de 18H à 24H sur milieu d'isolement, on prélève à l'aide d'une anse quelques colonies bien isolées qu'on dissocie dans 10ml d'eau physiologique. Bien homogénéiser la suspension bactérienne telle que sa charge doit être équivalente à 0,5 Mac Farland (correspondant à environ 10^8 bactéries/ml).

- **Ensemencement**

L'ensemencement est fait par la méthode d'écouvillonnage ; on trempe l'écouvillon dans la suspension bactérienne, on frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface, de haut en bas, en stries serrées. On répète 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. On dépose les disques d'antibiotiques à tester. On incube les boîtes pendant 24H à 35°C.

Une souche de contrôle de qualité; *Escherichia coli* ATCC 25922 est testée en parallèle, afin de valider les résultats de l'antibiogramme.

- **Lecture**

Avant de lire l'antibiogramme, on valide la lecture par les souches témoins qui doivent donner des valeurs précises afin d'interpréter l'antibiogramme. On mesure les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques.

L'interprétation en sensible (S) intermédiaire (I) ou résistante (R) est effectuée selon les critères définis par les recommandations de CLSI 2014 (Annexe 3).

2.4. La détection de phénotype de résistance des souches productrices de BLSE

Les souches d'entérobactéries présentant un diamètre réduit à la Céftiofur (C3G) avec ou sans image de synergie (XNL-AMC), ont été retenues pour la mise en évidence des BLSE selon les techniques suivantes :

Test de synergie (Jarlier, 1988)

- **Principe** : La recherche de la β -lactamase à spectre étendu se fait dans les conditions standard de l'antibiogramme en disposant un disque d'amoxicilline +acide clavulanique AMC (20/10 μ g) à 30 mm (centre à centre) d'un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération: Céftiofur XNL (30 μ g).
- **Lecture** : Il y a présence d'une BLSE ou un test de synergie positif quand il y a une image caractéristique, en « bouchon de Champagne ». Un résultat positif est basé sur l'inhibition des BLSE par l'acide clavulanique, et par conséquent l'augmentation de l'activité des céphalosporines de troisième génération (C3G) en présence d'acide clavulanique.

Test de confirmation DDST (Technique du double disque, Double-disc synergy test)

Ce test se fait systématiquement devant l'absence de synergie avec diminution des diamètres des céphalosporines de troisième génération (C3G).

- **Principe**

- On dépose un disque d'AMC et un disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (Céftiofur) à une distance de 30mm (centre à centre) ;
- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse). La boîte est déposée le couvercle vers le haut ;
- Après diffusion, on enlève le disque d'AMC et on le remplace par un disque d'XNL;
- On incube la boîte 37°C pendant 24 H.

- **Lecture**

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération appliqué après diffusion du disque AMC est supérieur ou égal à 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération, ce qui indique une production d'une BLSE (OMS, 2014).

2.5. L'analyse statistique de l'étude

Le traitement statistique s'est limité à l'analyse de variance de deux facteurs sans répétition de l'expérience et le test LSD. Les deux facteurs pris en considération sont les antibiotiques testés et les espèces dominantes. La différence est significative au seuil 0,05.

*Résultats et
discussion*

II. Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Souches isolées

Au cours de cette étude, 254 souches appartenant à 10 espèces d'entérobactéries ont été isolées au sein du service de bactériologie médicale du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem. Ces souches sont réparties en fonction de la nature du prélèvement et de la région.

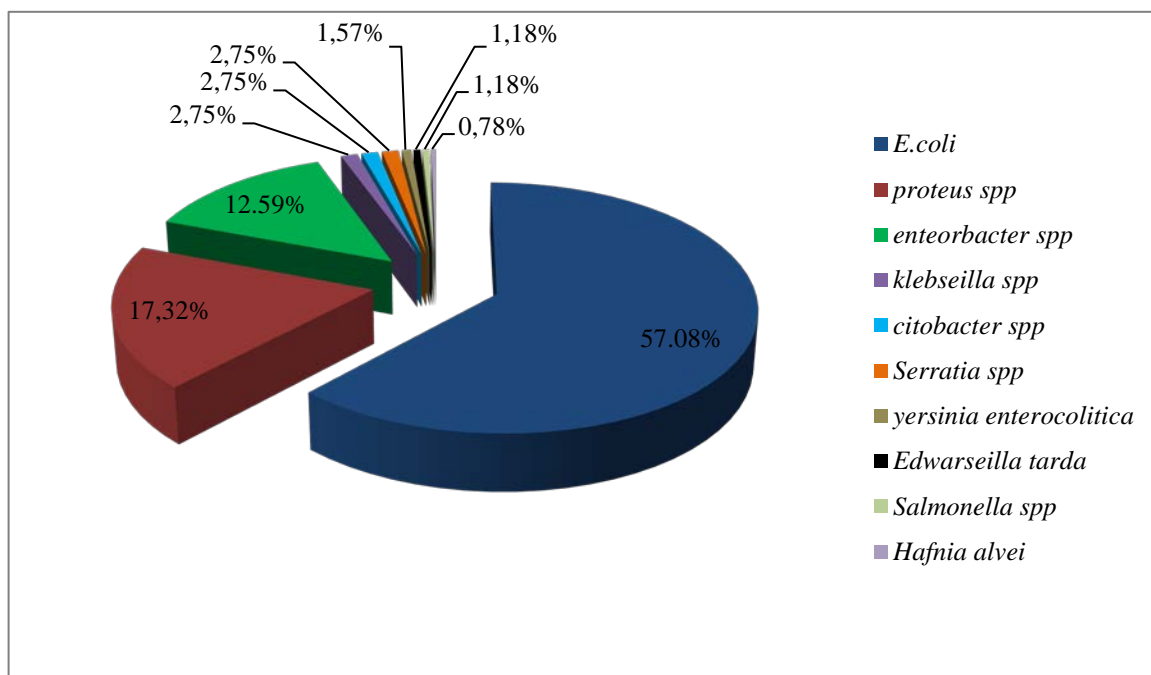


Figure 8 : Répartition des souches isolées

Dans l'ensemble des souches isolées, *Escherichia coli* reste l'espèce dominante avec une fréquence d'isolement de 57,08%, suivie par *Proteus spp* et *Enterobacter spp* avec des taux d'isolement pratiquement rapprochés soit 17,71% et 12,20% respectivement. Alors que, *Salmonella spp* occupe la dernière place avec un pourcentage d'isolement de 1,18%. les autres espèces étant moins représentées, (figure 8).

Le même classement a été rapporté par Benameur et al. en 2011 dans la même région, mais avec un moindre pourcentage concernant la première espèce, (48,33%, 25,41%, 12,91% pour *E.coli*, *Proteus spp* et *Enterobacter spp* respectivement), et avec absence de contamination salmonellique.

1.3. Répartition des souches en fonction des prélèvements

La figure suivante récapitule la répartition des souches isolées selon la nature des prélèvements effectués durant cette étude.

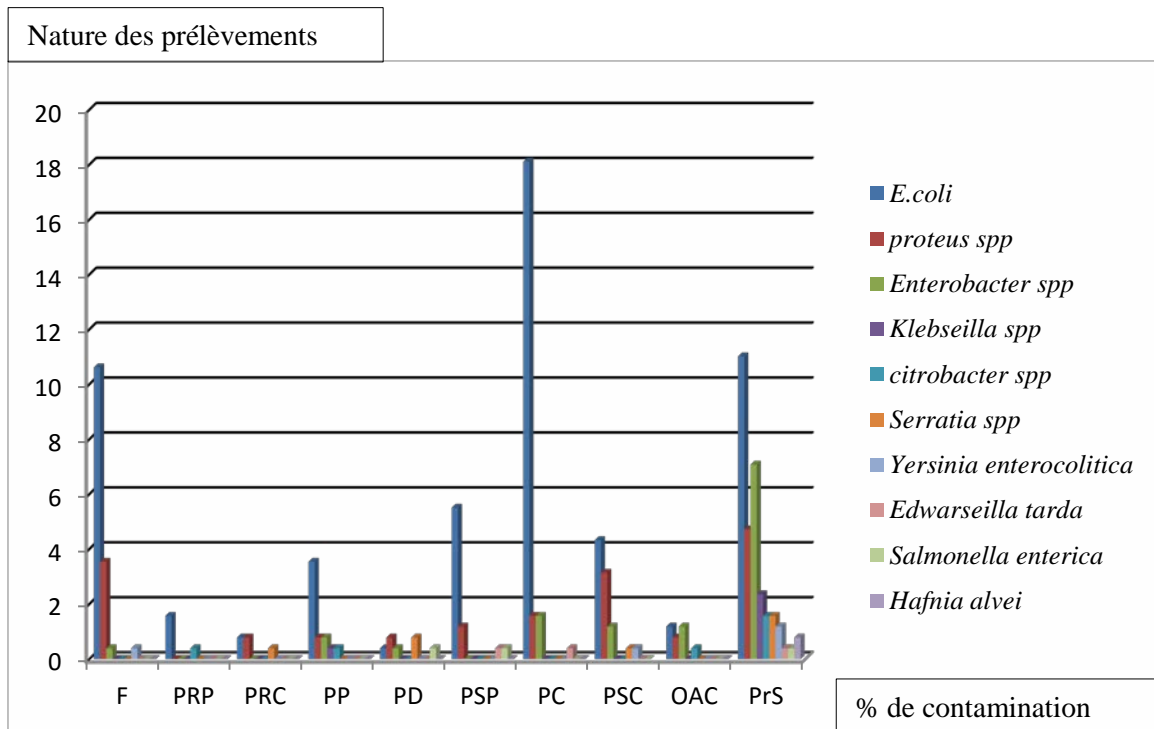


Figure 9 : Répartition des souches en fonction des prélèvements

F : fientes, PRP : poulette repro-ponte, PRC : poulette repro-chair, PP : poule pondeuse, PD : poulette démarrée, PSP : poussin ponte, PC : poulet de chair, PSC : poussin de chair, OAC : œufs à couvrir, PrS : prélèvement de surface.

La distribution des espèces isolées en fonction de nature des prélèvements révèle qu’*Escherichia coli* occupe la 1^{ère} place parmi les entérobactéries dans tous les prélèvements et particulièrement pour les trois types suivants : poulet de chair, prélèvement de surface et fiente avec respectivement des taux de 86,79% (46/53), 35,44% (28/79), 17,05% (27/38) (figure 9).

La dominance du germe *E.coli* dans les prélèvements de poulet de chair peut être expliqué par le type d’élevage de la filière chair (en sol) qui expose le cheptel chair aux différentes infections et indirectement aux surinfections colibacillaires, car *E. coli* est rarement un agent d’infection primaire. Selon Borne (1998) et Donval (2006), il s’agit plutôt d’une bactérie

opportuniste, comme elle peut aussi exprimer son pouvoir pathogène suite à l'intervention des facteurs déclenchant qui peuvent être d'ordre viral, bactérien ou simplement de stress.

Le germe *E.coli* est suivi par *Proteus spp* qui contamine à son tour les prélèvements de surface et les fientes avec respectivement des pourcentages de 15,18% (18/79), 23,68 (9/38). À noter que les souches d'*Enterobacter spp* prédominent dans les prélèvements de surface par rapport aux autres types de prélèvement, soit 22,78% (18/79). Cela évoque clairement la mauvaise pratique d'hygiène ou le non-respect du protocole de désinfection vis-à-vis de ces germes dans les centres avicoles étudiés. A une échelle plus élevée, les *Escherichia coli* sont plus 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, pouvait contenir jusqu'à 10^6 colibacilles par gramme (Gross, 1994).

Aussi chez la volaille, le plus important réservoir des *E.coli* est le tractus digestif, dont 10 à 15 % de la population colibacillaire appartient à des sérotypes potentiellement pathogènes. Les concentrations sont de l'ordre de 10^6 colibacilles par gramme de matière fécale. Les plus grandes concentrations ont été retrouvées chez les animaux de moins de 3 semaines, essentiellement au niveau du tractus digestif postérieur (Gross, 1994 ; Dho-moulin et Fairbrother, 1999).

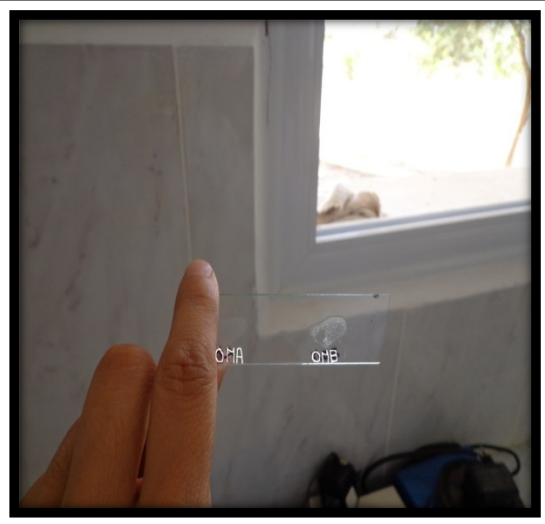

Dans notre étude, il a été enregistré aussi trois contaminations salmonelliques, la première au cour de la période inter-bandes (prélèvement de surface, 1,26% (1/79)), la deuxième au début de la bande (poussin ponte, 5% (1/20)) et la dernière à la fin de la bande (poulette démarrée, 16,66% (1/6)) (figure 9).

Pour la première contamination, cela pourrait indiquer la persistance de certains sérovars entre deux bandes successives. Il est bien connu que les prélèvements de poussières peuvent nous renseigner sur l'état de contamination des précédentes bandes d'élevages (Arnold et al., 2009). Le résultat de cette étude corrobore clairement cette conclusion. Et pour les deux autres contaminations, plusieurs auteurs ont rapporté que certains facteurs de stress tels que : les températures élevées au sein des poulaillers, le cycle de production d'œufs, la mue, le transport peuvent causer l'excrétion de *Salmonella* (Van de Giessen et al., 2006 ; Humphrey, 2006 ; Golden et al., 2008).

D'un autre côté, la proportion de prélèvements positifs dans notre étude est très faible. En effet, seulement 03 isolements positifs sur un total de 254 analysés (1,18%). Ce résultat est en

accord avec les études menées dans l'est algérien par Algroud et *al.* en 2009 sur la filière chair et Bouzidi et *al.* en 2013 sur la filière ponte avec une fréquence d'isolement positif de *Salmonella* de l'ordre de 1,66% et 0,68% respectivement. Cela pourrait être expliqué par le faible degré d'excrétion de *Salmonella* au moment de l'échantillonnage et/ ou l'excrétion intermittente de *Salmonella* par les oiseaux infectés (Van Immerseel et *al.*, 2004). Elle pourrait être également due à une compétitivité entre différents germes saprophytes qui inhiberait ainsi la multiplication des germes pathogènes et ce par modification du milieu car ces derniers sont plus exigeants que les germes saprophytes (Valanconny et *al.*, 2001).

1.2. Sérotypes identifiés des salmonelles

	
<p>Figure 10: Agglutination sur lame d'une Salmonelle (OMA- et OMB+)</p>	<p>Figure 11 : Les sérums polyvalents des Salmonelles OMA et OMB</p>

Les trois isolats de salmonelles de notre étude ont été représentés par deux sérotypes (figure 10 et 11), un par *S. kentucky* dans un bâtiment d'élevage de poule pondeuse après sa désinfection et les deux autres par *S.worthington* dans deux élevages : poussin ponte et de poulette démarrée. Ces 2 sérotypes ne sont pas fréquents en Algérie. Ils pourraient provenir de l'environnement, poussins importés ou des autres espèces animales, indiquant ainsi la grande diversité des réservoirs potentiels de contamination par les souches non typhoïdique de *Salmonella* telles : aliments, eau, accès facile des autres espèces animales, contact humain et autres.

1.4. Répartition des souches en fonction de la région

Le tableau suivant représente la répartition des principales souches isolées en fonction des six régions étudiées.

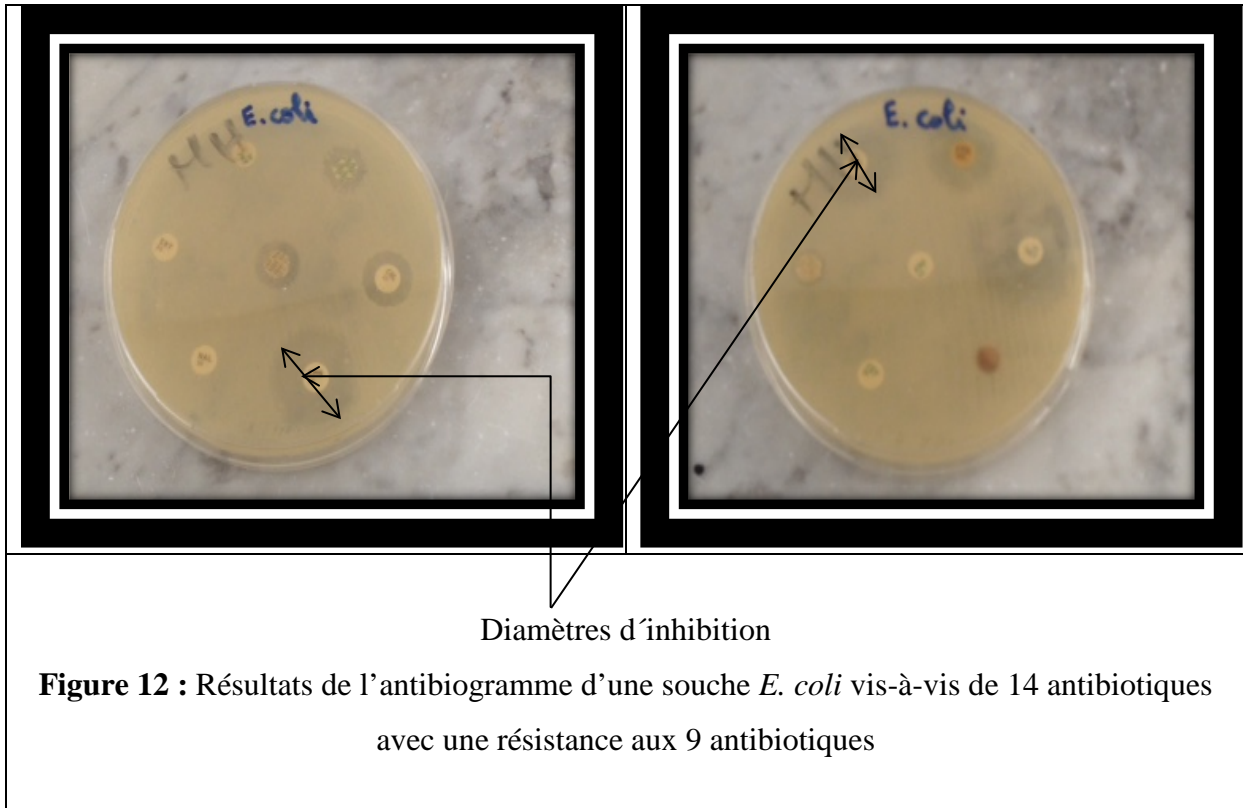
Tableau 5 : Répartitions des principales souches en fonction de la région

Région Espèce	Mostaganem	Mascara	Tiaret	Relizane	Chlef	Tissemsilt	Total
<i>Escherichia coli</i>	75	26	34	07	01	02	145
<i>Proteus spp</i>	17	08	13	04	01	01	44
<i>Enterobacter spp</i>	11	09	06	03	02	01	32
<i>Salmonella spp</i>	01	02	00	00	00	00	03
Total	104	45	53	14	04	04	224
%	40,94	17,71	20,86	05,51	01,57	01,57	88,18

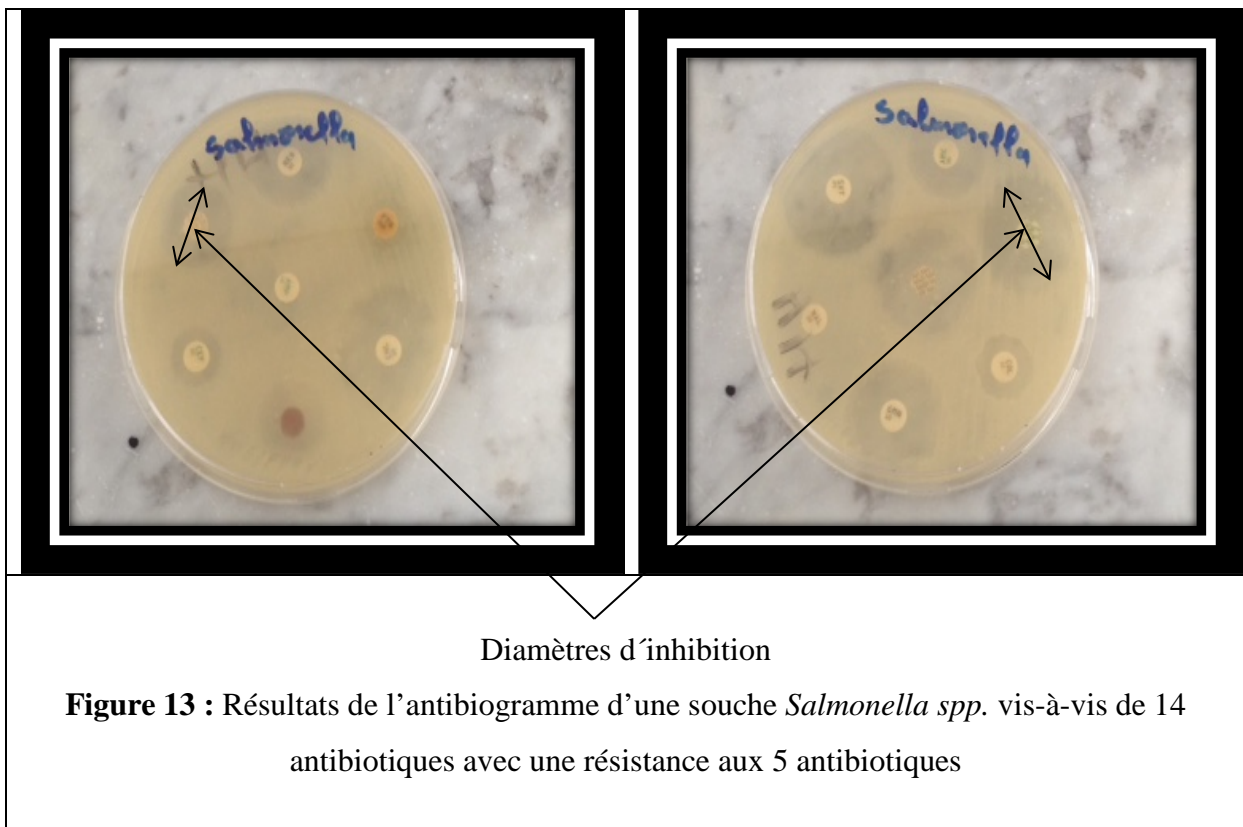
Le nombre de souches isolées, toutes espèces confondues, est prédominant pour la région de Mostaganem (40,94%) suivi de Tiaret (20,86%) et enfin de Mascara (17,71%). Nous pouvons émettre, en tant qu'hypothèse, que cette prédominance est due au nombre élevé des prélèvements au niveau des régions citées.

1.5. Antibiogramme

La sensibilité de l'ensemble des souches d'entérobactéries isolées a été testée vis-à-vis des 14 antibiotiques énumérés dans le chapitre matériel et méthodes. Des exemples d'antibiogramme sont repris dans les figures 12 et 13.



Les diamètres des zones d'inhibitions sont comparés avec ceux du tableau de lecture des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions pour entérobactéries (espèce aviaire) (OMS, 2014), (Annexe 3).



1.5.1. Antibiorésistance des principales souches étudiées aux antibiotiques testés

Les résultats obtenus font ressortir un taux élevé de résistance des espèces d'entérobactéries isolées, parmi lesquelles on peut citer *E. coli*, *Proteus spp*, *Enterobacter spp* et *Salmonella spp*.

1.5.1.1. *E. coli*

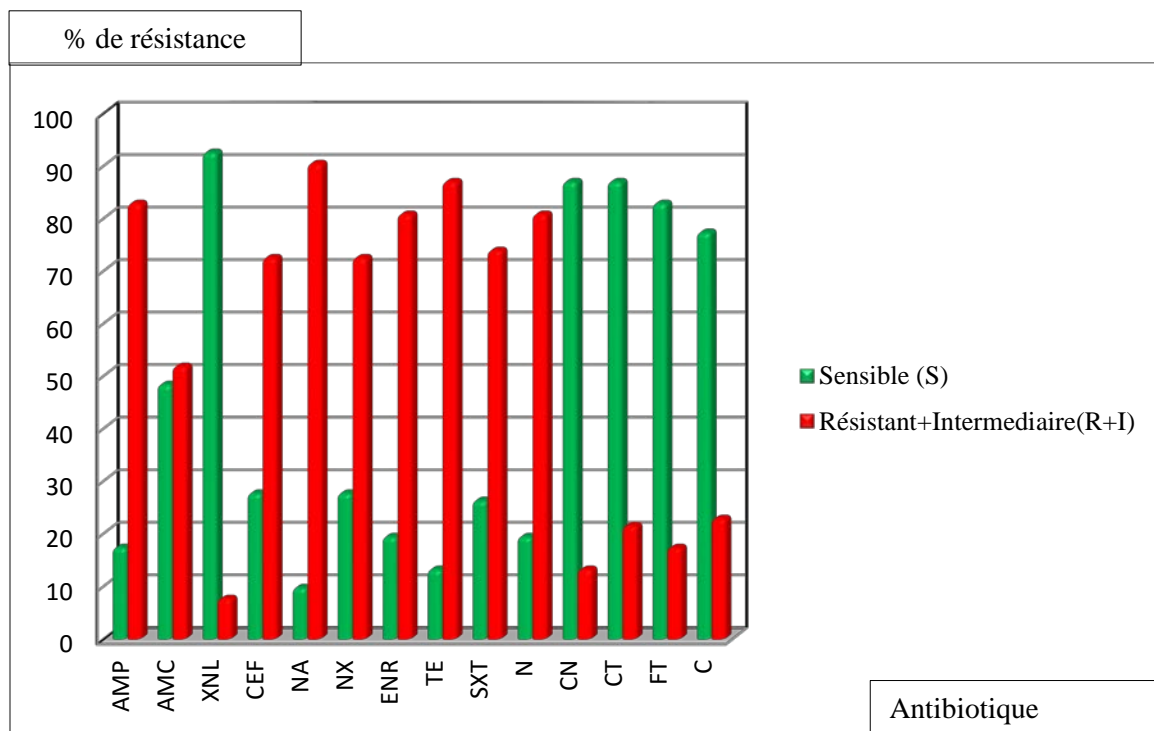


Figure 14: Pourcentage de résistance d'*E.coli*

AMP : Ampicilline, AMC : Amoxicilline+acide clavulanique, XNL : Ceftiofur, CEF : Cefalotine, NA : Acide nalidixique, NX :Norfloxacin, ENR : Enrofloxacin, TE : Tétracycline, SXT : Triméthoprime+Sulfaméthoxazole, N : Néomycine, CN : Gentamycine, CT : Colistine, FT : Nitrofurantoin, C : Chloramphénicol.

Nos résultats mettent en évidence une haute résistance des *E. coli* isolées à l'ampicilline dont le taux s'élève à 82,75% (figure 14). Ces résultats sont largement supérieurs à ceux rapportés par Hammoudi et Aggad (2008) dans l'ouest algérien qui révèlent un taux de résistance à l'ampicilline de 47 %. Par contre ils sont inférieurs à ceux rapportés par El Houadfi et Zekhnini (2009) au Maroc (96%), mais sont proches à ceux enregistrés par Messai et al. en 2013 dans l'est algérien (84,5%). Ce résultat est en relation avec une

utilisation accrue de cet antibiotique à des fins thérapeutiques, surtout dans les élevages avicoles dès les 1^{ers} jours de vie des sujets. Concernant l'amoxicilline+acide clavulanique, le pourcentage de résistance est de 45,21 %. Il est inférieur à celui signalé par le réseau OMS Algérien (61,53%), dans son 10^{ème} rapport d'évaluation de la résistance aux antibiotiques. Cela est probablement dû à la faible utilisation de cet antibiotique dans les régions étudiées.

Un faible taux de résistance des colibacilles est enregistré vis-à-vis de ceftiofur (7,58%) sans doute en raison de l'introduction très récente de cette molécule dans les antibiothérapies appliquées aux élevages dans les régions étudiées. Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Kechih en 2010 au niveau des laboratoires vétérinaires d'EL Tarf et de Draa Benkhedda avec respectivement des pourcentages de 4% et 0%. Alors que la slovak Drugdová a rapporté en 2013 un taux de résistance des colibacilles de 40% sur une étude de deux ans concernant la filière chair, ceci en relation avec une utilisation plus large et plus ancienne des céphalosporines dans ce pays.

En revanche, des taux de résistances alarmants sont enregistrés vis-à-vis des quinolones (l'acide nalidixique 90,34%) et des fluoroquinolones (l'enrofloxacin 80,68%, norfloxacin 72,41%). Ces résultats sont très éloignés par rapport à ceux rapportés par le réseau de l'OMS en Algérie dans son 14^{ème} rapport (2013) avec respectivement des pourcentages de 39,30% et 53,50% pour l'acide nalidixique et l'enrofloxacin, mais sont proches de ceux menés par Saberfar et *al.* en Iran (2008) et Hafed et *al.* au Maroc (2016) pour l'enrofloxacin avec respectivement 76% et 76,38%.

Depuis l'introduction des quinolones en médecine vétérinaire durant les années 80, par les molécules de première et deuxième génération (acide nalidixique) puis celles de troisième génération, les fluoroquinolones (enrofloxacin notamment), leur utilisation a connu un essor grandissant grâce à leur large spectre d'activité qui s'est élargi d'une génération à l'autre.

Aussi une fréquence de résistance très élevée a été signalée dans notre étude pour les tétracyclines (86,89%). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par de précédentes études réalisées en Algérie (Hammoudi et Aggad, en 2008, 82 %; Aggad et *al.*, en 2010, 87 %), en France (Resapath en 2010, 84%) et au Maroc (Elhouadfi et Zekhnini, en 2009, 96% ; Hafed et *al.*, en 2016, 97,5%), Cela s'explique par l'utilisation fréquente et ancienne de cette molécule (1948) dans la thérapie avicole.

Les sulfamides ont connu également un taux de résistance élevé avec 73,79% pour le triméthoprime+sulfaméthoxazole ; ce qui concorde avec les résultats obtenus par : Aggad et *al.*, en 2010 (70 %). Ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés par Rahmatallah et Nassik au Maroc en 2013 (82,23%) ; ils sont par contre supérieurs à ceux menés par Jaouzi et *al.* en

2003 au Maroc (68%) et par Resapath en France en 2010 (31%). Le taux élevé enregistré dans notre étude serait probablement la conséquence de la très grande prescription de cet antibiotique utilisé actuellement notamment dans la prévention des salmonelloses.

Le pourcentage de résistance à la néomycine est de 80,68%, ce qui est proche à l'étude rapportée par Saberfar et *al.* en 2008 (87 %). Néanmoins, Benameur et *al.* signalèrent en 2011 dans la même région un faible taux de résistance vis-à-vis de cette molécule (26,56%). Cette progression serait probablement due à la large utilisation de cet antimicrobien dans les régions étudiées.

Concernant la gentamycine, le taux de résistance est de 13,10 %. Il est à peu près similaire à celui signalé par Saberfar et *al.* en 2008 (12 %) et supérieur à ceux obtenus par Aggad et *al.* et Resapath, en 2010 (3 %).

La colistine a commencé de devenir une molécule moins active contre les colibacilles qui ont présenté un taux de résistance de 21,37%. Cela évoque clairement la rapidité de la propagation du clone émergent, qui porte le gène *mcr-1* (mediated colistin resistance gene), confirmé récemment(2016) chez la volaille par Olaitan et *al.* à l'est Algérien(Skikda) et celui trouvé chez l'homme par Yanat et *al.* (Bejaia) dans la même année. Cette résistance plasmique à la colistine est rapportée aussi au paravent en chine (Liu et *al.*, 2015). Elle est en rapport avec l'utilisation intempestive de cette molécule dans la thérapie avicole. La colistine est souvent le dernier rempart pour traiter les infections à BMR. L'émergence de la résistance plasmique à cet antibiotique dans notre contexte actuel, de résistance, (fréquence importante d'isolement des EBLSE) représente une menace à prendre très au sérieux.

Les pourcentages de résistance des souches *E. coli* vers le nitrofurantoïne et le chloramphénicol sont de 17,24% et 22,75% respectivement. Cela peut s'expliquer par l'utilisation et la vente non réglementaire de ces produits non homologués en Algérie.

1.5.1.2. *Proteus spp*

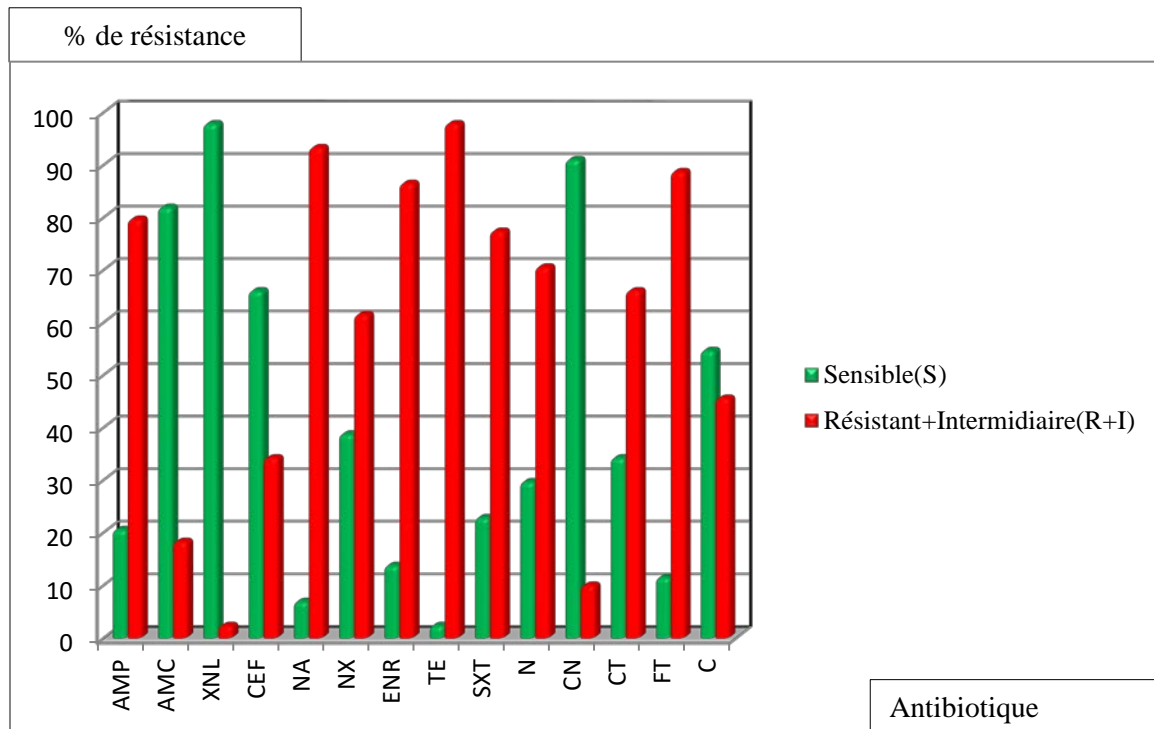


Figure 15 : Pourcentage de résistance de *Proteus spp*

Chez *Proteus spp*, il apparaît que certains antibiotiques demeurent moins efficaces contre ce germe par rapport à leurs actions contre les souches d'*E.coli* : acide nalidixique (93,18%), enrofloxacin (86,36%), tétracycline (97,72%), triméthoprime+sulfaméthoxazole (77,27%), nitrofurantoïne (88,63%), chloramphénicol (45,45%) (figure 15).

Aussi des taux de résistance aux certains antibiotiques inférieurs à ceux des souches d'*E.coli* ont été enregistrés: ampicilline (79,54%), amoxicilline+acide clavulanique (18,18%), ceftiofur (2,27%), céfalotine (34,09%), norfloxacin (61,36%), néomycine (70,45%), gentamycine (9,09%).

Notons également une augmentation du taux de résistance vis-à-vis de la colistine (65,90%) et le nitrofurantoïne (88,63%) due à une résistance naturelle des souches à cet antibiotique (CA-SFM / EUCAST, 2014).

1.5.1.3. *Enterobacter spp*

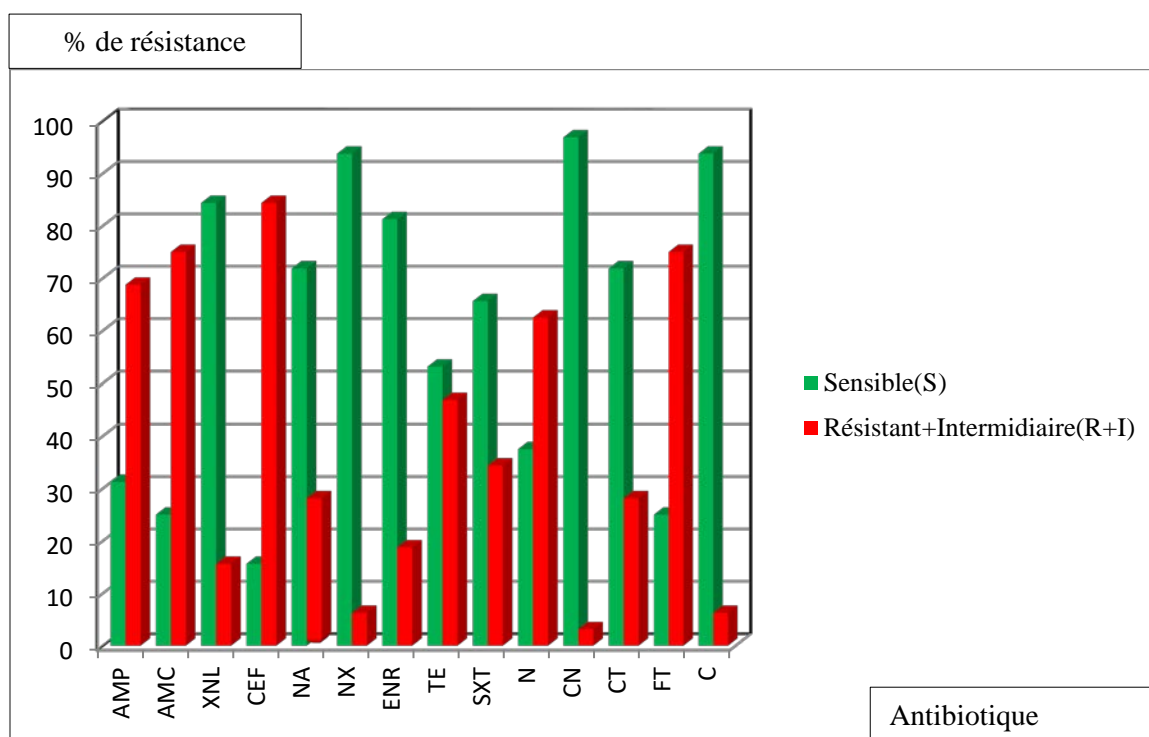


Figure 16 : Pourcentage de résistance d’*Enterobacter spp*

Les souches identifiées d’*Enterobacter spp* ont présenté une résistance importante vis-à-vis de céfalotine (84,37%), nitrofurantoïne (75%), amoxicilline+acide clavulanique (75%), l’ampicilline (68,75%), néomycine (62,50%) (figure 16).

Les faibles taux de résistance pour cette espèce sont observés avec 46,87% pour la tétracycline, 34,37% pour le triméthoprim+ sulfaméthoxazole, 28,12% pour l’acide nalidixique et la colistine, 18,75 % pour l’enrofloxacin, 15,62 % pour le ceftiofur, 6,25% pour la norfloxacin et le chloramphénicol.

La gentamycine reste l’antibiotique le plus actif sur les souches d’*Enterobacter spp* avec une sensibilité presque totale, le taux de résistance était de 3,12%.

1.5.1.4. *Salmonella* spp

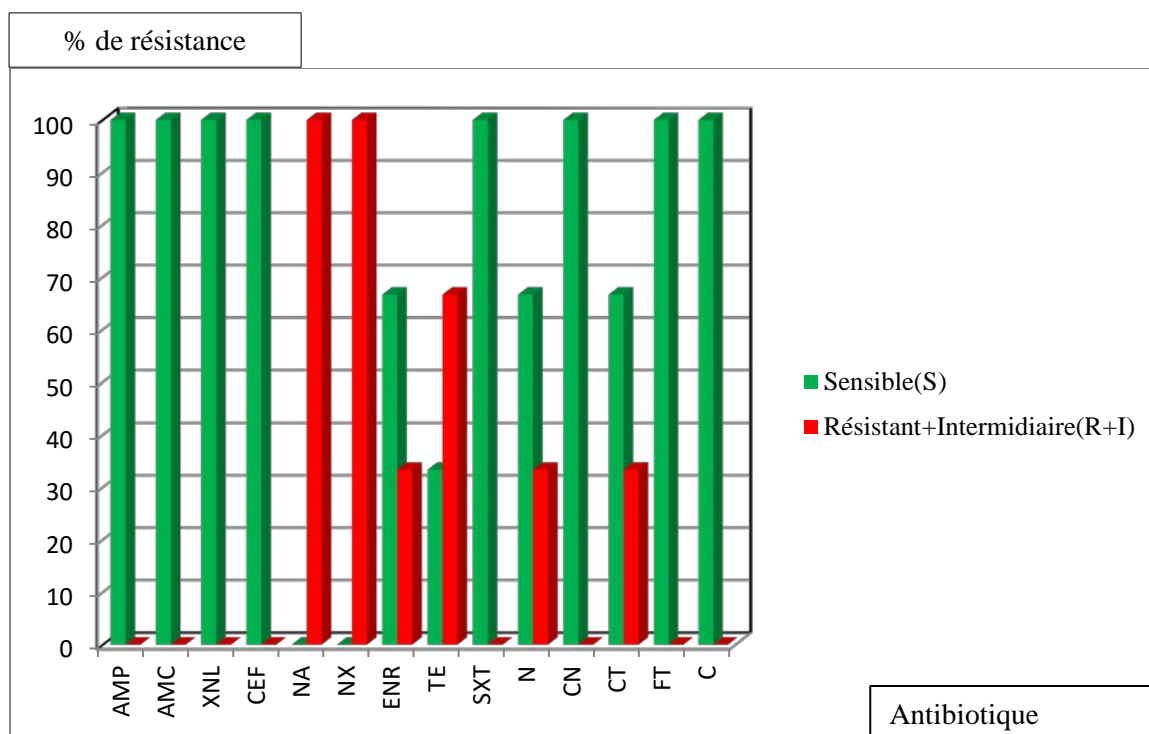


Figure 17: Pourcentage de résistance de *Salmonella* spp

La résistance des salmonelles à la néomycine et aux tétracyclines est assez commune et a concerné 66,66% (n=2) des souches isolées, tandis que 33,33% (n=1) des isolats ont été résistants à la colistine, 100% (n=3) à l’acide nalidixique et seulement un isolat était résistant aux fluoroquinolones. Cette importante résistance à l’acide nalidixique n’est pas très surprenante, au regard de l’augmentation importante des résistances à cette molécule observée dans beaucoup de pays au cours de ces dernières années (Aarestrup et al., 2007).

Tous les isolats de salmonelles étaient résistants à au moins un antibiotique, alors que plus de de la moitié des isolats était résistante à trois molécules ou plus, mais leur majorité concernait les tétracyclines, qui sont d’anciennes molécules largement utilisées en première intention. Cette résistance a été rapportée dans plusieurs études concernant la volaille et les produits avicoles (Manie et al., 1998 ; Nayak et al., 2004 ; Elgroud et al., 2009, Bouzidi et al., 2013). La résistance à ces molécules est assez connue et serait généralement due à un gène plasmidique qui peut être acquis assez facilement par les bactéries.

La présence d’isolats résistants aux fluoroquinolones est beaucoup plus inquiétante, car ces molécules d’antibiotiques sont parmi les derniers recours pour le traitement des salmonelloses humaines sévères. Cela pourrait être lié à l’utilisation non prudente de ces molécules, pourtant

assez chères. Fort heureusement, aucune résistance n'a été enregistrée aux bêta-lactamines (ampicilline, amoxicilline +acide clavulanique), céphalosporines (ceftiofur, céfalotine), sulfamides (triméthoprime+ sulfaméthoxasole), aminosides (gentamycine), phénicolés (chloramphénicol). Alors qu'en 2013 le 14^{ème} rapport du réseau de surveillance de l'antibiorésistance de l'OMS en Algérie a signalé des taux de résistances des salmonelles élevés par rapport à ceux de notre étude avec de 26,4% , 5,4%, 2,4%, 11,7%, 5,4%, pour l'ampicilline, l'amoxicilline+l'acide clavulanique, le céfotaxime, le triméthoprime + sulfaméthoxasole, le chloramphénicol respectivement ; néanmoins avec une sensibilité totale vis-à-vis de la gentamycine. Ces résultats peuvent être expliqués par l'utilisation modérée de ces antimicrobiens.

D'un autre côté, la pression de sélection exercée sur les souches bactériennes par les différentes utilisations d'antibiotiques selon les praticiens et les endroits ; et l'instabilité intrinsèque de l'ADN extra-chromosomique pourraient expliquer l'hétérogénéité des isolats quant à leurs profils de résistance.

Seulement le sérovars *Kentucky* était résistant à l'enrofloxacin (fluroquinolone de 3^{ème} génération), ce résultat corrobore avec plusieurs études qui ont rapporté l'émergence du sérotype *Kentucky* résistant aux fluoroquinolones à travers plusieurs pays tels que la France (Weill et al., 2006), Slovénie (Majtán et al., 2006), Ethiopie (Molla et al., 2006 ; Aragaw et al., 2007), Belgique (Collard et al., 2007), Maroc (Bouchrif et al., 2008) et Algérie (Bouzidi et al., 2013). L'enquête épidémiologique de l'institut Pasteur de paris a montré l'isolement de ce clone de *S. Kentucky* résistant à la ciprofloxacin chez la volaille dans trois pays d'Afrique (Ethiopie, Maroc, et le Togo) (Le Hello et al., 2011), suggérant ainsi la volaille comme vecteur important de la dissémination de ce clone.

1.5.2. Le traitement statistique des résultats

Tableau 6 : Analyse de variance: deux facteurs sans répétition d'expérience

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité.	Valeur critique pour F
Lignes (espèces bactériennes)	51597.9107	3	17199.3036	34.534	4.576E ⁻¹¹	2.8450
Colonnes (antibiotiques)	11462.875	13	881.75961	1.770	0.08408	1.9805
Erreur	19423.3393	39	498.034341			
Total	82484.125	55				

L'analyse du tableau de l'ANOVA montre que les colonnes (antibiotiques) ne sont pas significativement différents. Par contre, les lignes (espèces bactériennes) sont différentes au seuil 0.05. La probabilité critique est très petite (4.576E⁻¹¹) (tableau 6).

Puisqu'il y a une différence entre les espèces bactériennes, cherchons maintenant la source des écarts. Nous utilisons le test LSD.

La comparaison des moyennes par le LSD donne les groupes suivants (tableau 7) :

Tableau 7 : Le test LSD

<i>E.coli</i>	A		
<i>Proteus spp</i>		B	
<i>Enterobacter spp</i>		B	C
<i>Salmonella spp</i>			C

LSD : Least Square Différence / Différence des moindres carrés.

L'analyse statistique des résultats a montré qu'il n'y a pas de différence significative entre les 14 antibiotiques testés sur les espèces dominantes au seuil de 0,05 ; cela est expliqué par l'utilisation large et intempestive de ces antimicrobiens dans les régions étudiées. En revanche l'analyse de variance de la résistance aux antibiotiques des 4 espèces dominantes a montré une différence significative au seuil 0,05. D'autre part la comparaison des moyennes par le LSD a classifié les espèces dominantes en trois groupes : *E.coli* se distingue dans un premier groupe A, *Proteus spp* dans un deuxième groupe B et *Salmonella spp* dans un dernier groupe C, néanmoins *Enterobacter spp* a été considéré comme une espèce intermédiaire entre *Proteus spp* et *Salmonella spp*. Cette apparence est due principalement au grand écart de nombres des espèces identifiées.

1.5.3. Les antibiotypes de résistance de *Salmonella spp*

Tableau 8 : Les antibiotypes de résistance de *Salmonella spp*

Antibiotype	Désignation	N (%)
NX NA N	A	1(33,33)
NX NA ENR TE	B	1(33,33)
NX NA N TE XNL CT	C	1(33,33)
Totale		03(100%)

N : Le nombre de souches, % : Le pourcentage.

Trois antibiotypes de résistance hétérogènes ont été enregistrés pour le germe *Salmonella*. Cette hétérogénéité des profils de résistances est expliquée par le nombre réduit des souches isolées dans notre étude (tableau 8).

1.5.4. Pourcentage de la multirésistance d’*E.coli*

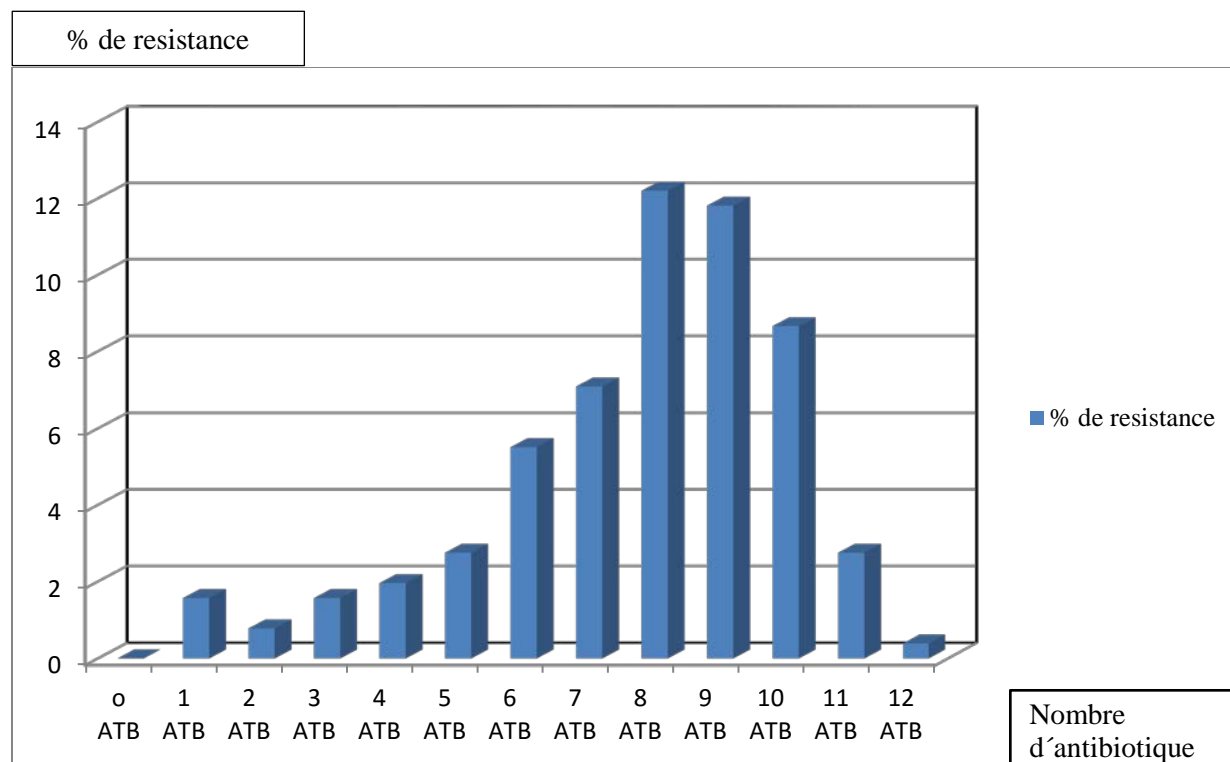


Figure 18 : Pourcentage de la multirésistance d’*E.coli*

100% d'isolats d'*E.coli* ont été trouvés résistants à au moins un antibiotique, alors que plus de trois tiers des isolats étaient résistants à au moins sept antibiotiques et plus de la moitié des souches concernaient huit antibiotiques ou plus. Ces taux sont supérieurs à ceux signalés par Benameur et *al.* en 2011 dans son étude dans le même zoning qui sont de 100%, 48,25%, 19,81% pour au moins 1, 7, 8 antibiotiques respectivement. Cette évolution de multirésistance peut être expliquée par l'utilisation massive de plusieurs antimicrobiens durant la même bande d'élevage, ce qui exerce une pression de sélection sur les colibacilles qui deviennent multirésistants. (figure 18).

1.5.5. Les antibiotypes de résistance d'*E.coli*

Tableau 9 : Les antibiotypes de résistance les plus fréquents d'*E.coli*

Antibiotype	Désignation	N (%)
NA, TE, ENR	A	5(3,44)
NA, TE, ENR, AMP	B	7(4,82)
NA, TE, ENR, AMP.SXT	C	8(5,51)
NA, TE, ENR, AMP, SXT, NX	D	28(19,31)
NA, TE, ENR, AMP, SXT, NX, AMC	E	20(13,79)
NA, TE, ENR, AMP, SXT, NX, AMC, CEF	F	16(11,03)
NA, TE, ENR, AMP SXT, NX, AMC, CEF, N	G	7(4,82)
NA, TE, ENR, AMP, SXT, NX, AMC, CEF, N, C	H	4(2,75)
NA, TE, ENR, AMP, SXT, NX, AMC, CEF, N, C, CN	I	3(2,06)
NA, TE, ENR, AMP, SXT, NX, AMC, CEF, N, C, CN, FT	J	2(1,37)
NA, TE, ENR, AMP, SXT, NX. AMC, CEF, N, CT, XNL	K	1(0,68)
NA, TE, ENR, AMP, SXT, NX, AMC, CEF, N, XNL	L	1(0,68)
Totale		102(70,34)

N : Le nombre de souches, % : Le pourcentage.

Les colibacilles isolés dans notre étude ont plus de quarante différents antibiotypes de résistance, le tableau ci-dessus contient les plus fréquents. On remarque que presque la moitié des colibacilles isolés dans notre étude 44,13% (64/145) (tableau 9).

Ces antibiogrammes contenaient les bêta-lactamines (AMC, AMP, CEF), les quinolones (NA), les fluoroquinolones (ENR, NX), les tétracyclines (TE), les sulfamides (SXT). C'est une co-résistance vis-à-vis des molécules d'antibiotiques appartenant à des familles largement utilisées dans la thérapie avicole. Benameur et *al.* dans une étude récente (2016), sur 102 souches d'*E.coli* isolées à partir des poulets de chair sains dans la même région ont signalé que presque un tiers de leurs isolats ont été multirésistants aux mêmes familles d'antibiotiques qu'on a testé.

1.5.6. Les souches productrices de BLSE

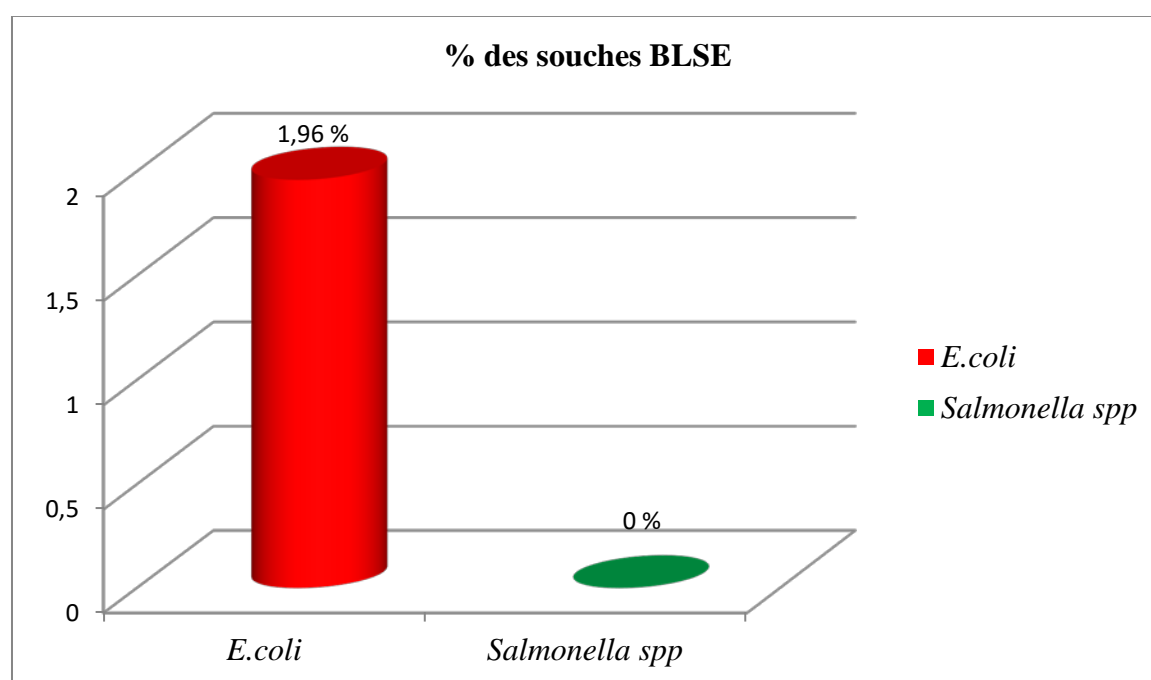


Figure 19 : Pourcentage des souches productrices de BLSE

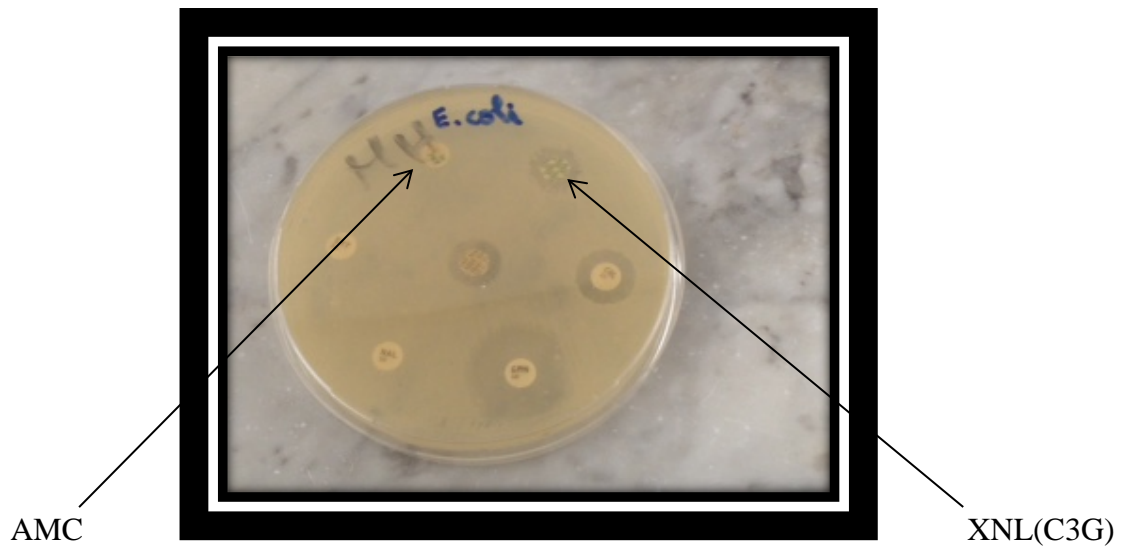
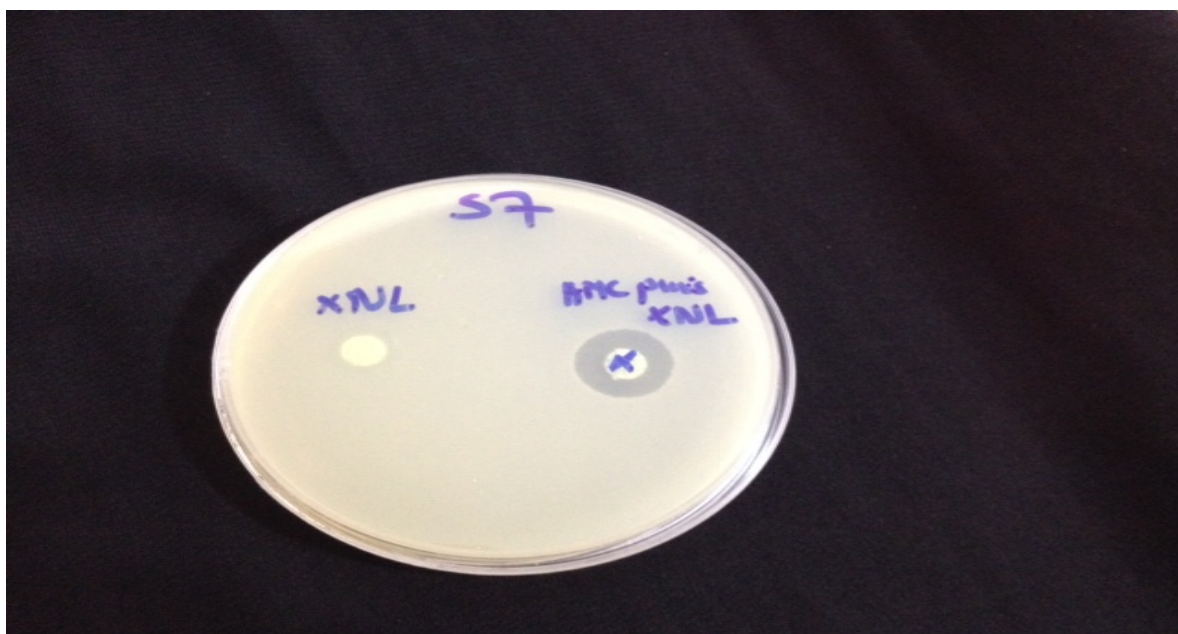


Figure 20 : profil de résistance d'une souche *E.coli* suspect BLSE

(Diamètre réduit vis-à-vis de l'XNL à côté de l'AMC centre à centre « test de synergie »).



XNL : ceftiofur, AMC : amoxicilline + acide clavulanique; (une grande différence entre les diamètres d'inhibition des deux disques d'antibiotiques \gg 5 mm).

Figure 21 : Confirmation par DDST d'une souche *E.coli* BLSE

Dans notre travail aucune souche *Salmonella* n'a été confirmée comme productrice de BLSE. En revanche cinq isolats d'*E.coli* ont présenté des diamètres réduits vis-à-vis de ceftiofur (C3G) avec absence de l'image de synergie entre les deux disques d'antibiotiques AMC et XNL (figure 20). Cependant elles ont été trouvées productrices de BLSE après leur confirmation par la méthode de double disque (figure 21). Elles ont présenté un pourcentage de 1,96% (5/254) (figure 19). Ce pourcentage est largement inférieur à celui rapporté par Belmahdi et *al.* en 2016 dans la région de Béjaia (32,78%). Ce grand écart est expliqué par l'apparence des méthodes d'isolement des souches d'*E.coli*, car Belmahdi et *al.* ont utilisé la méthode d'isolement sélective par l'addition de C3G au milieu d'enrichissement ce qui augmente les chances d'isoler un pourcentage assez élevé des souches productrices de BLSE. En revanche, Parvez et *al.* en 2016 au Bangladesh ont rapporté dans leur étude un pourcentage nul des colibacilles d'origine avicole résistants à l'amoxicilline +acide clavulanique, après qu'ils aient donné des résultats DDST (Double-disc synergy test) négatifs. Mais les résultats de PCR ont montré la présence de génotype *bla*_{TEM} dans toutes les souches. Cela s'explique par l'acquisition de ces souches d'un inhibiteur de phénotype de résistance qui a inhibé l'effet synergique de l'acide clavulanique. Selon Parvez et *al.*, cet inhibiteur de phénotype de résistance est transférable entre les espèces bactériennes via les plasmides, ce qui le rend une menace réelle pour la santé animale et humaine.

1.5.7. Sensibilité des souches productrices de BLSE aux antibiotiques

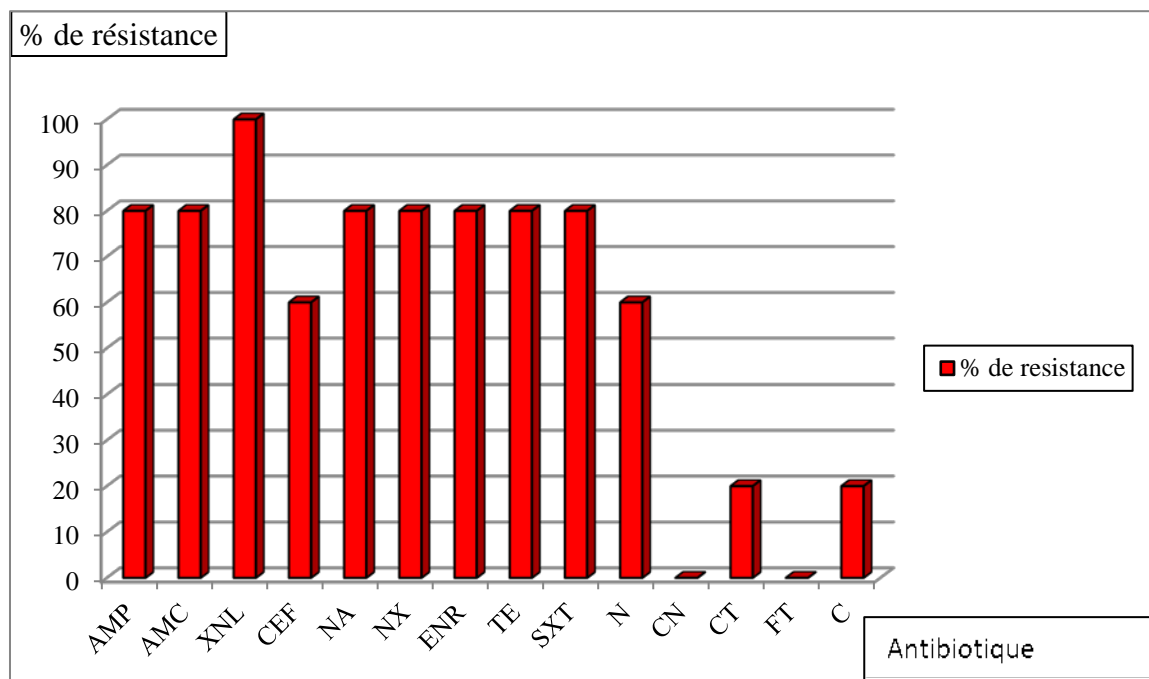


Figure 22 : Pourcentages de résistances des souches productrices de BLSE aux différents antibiotiques

En plus de leur résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération, les souches *E.coli* BLSE ont présenté des co-résistances vis-à-vis des autres bêta-lactamines, quinolones, fluoroquinolones, sulfamide, tétracyclines et aminosides. Elles ont eu un taux de résistance de 80% pour chaque molécule suivantes : ampicilline, amoxicilline + acide clavulanique, ceftiofur, acide nalidixique, norfloxacin, enrofloxacin, tétracycline et triméthoprime+Sulfaméthoxazole; et un pourcentage de 60% concernant le céfalotine et la néomycine.

Seulement 20% pour la colistine et le chloramphénicol a été enregistré, mais la quasi-totalité des souches BLSE ont été sensible aux gentamycine et nitrofurantoine.

Cette multirésistance est en rapport avec l'utilisation abusive d'antibiotiques à large spectre. Il est actuellement prouvé que l'utilisation des antibiotiques, notamment les céphalosporines de 3^{ème} génération dans un but thérapeutique est le facteur de risque le plus important dans le développement de résistances bactériennes (Rubin et Samore, 2002), et est devenue un problème majeur de santé publique.

Des gènes de résistances à différentes familles d'antibiotiques sont décrits comme présents sur un même plasmide, représentant ainsi un mode de diffusion efficace de plusieurs mécanismes associés (Leotard et Negrin, 2010). Cette dissémination de la multirésistance et cette diffusion des gènes de résistance sont liées à l'existence d'éléments génétiques mobiles entre bactéries d'une même espèce ou d'espèces différentes, ainsi qu'à l'existence de structures génétiques permettant de cumuler de nombreux gènes de résistance au sein d'une même souche (Skurnik et Andreumont, 2006).

Conclusion

Conclusion

Les résultats de cette étude révèlent d'abord une certaine diversité pour les espèces d'entérobactéries identifiées d'origine aviaire, mais l'espèce *E.coli* domine dans la fréquence d'isolement avec un pourcentage de 57,08%, sans omettre l'espèce la plus pathogène dans l'aviculture *Salmonella spp* dont le pourcentage est de 1,18%, avec la dissémination de deux serotypes : *S.kentucky* et *S.worthington*.

Nous avons noté un pourcentage de résistance alarmant des colibacilles testés vis-à-vis des quinolones de première génération (acide nalidixique) avec un taux de 90,34%, ce sont des molécules à large spectre d'activité considérés comme produits de recours utilisés en première intention dans la thérapie aviaire.

Les taux de résistances sont aussi importants pour la tétracycline (86,89%), l'ampicilline (82,75%) et 80,68% pour l'enrofloxacin et la néomycine, Ce sont des produits très utilisés dans l'espèce aviaire vu de leurs disponibilités avec des prix abordables sur le marché des médicaments vétérinaires en Algérie.

Les pourcentages de la résistance aux molécules interdites dans le domaine vétérinaire sont remarquables pour la nitrofurantoïne (17,24%) et le chloramphénicol (22,75%). Cela est peut être due à l'utilisation non réglementaire de ces antibiotiques dans les régions étudiées.

Les colibacilles ont commencé à devenir insensibles à la colistine. Le taux de résistance est de 21,37%. Cela est expliqué par le début de la dissémination de cette résistance bactérienne récemment découverte en Algérie.

Notre étude a permis de révéler un taux très élevé concernant la résistance individuelle d'*E. coli* (100% des isolats sont résistants à au moins un antibiotique) ainsi que pour la multirésistance (97,24% et 95,86% des isolats résistants pour au moins 2 et 3 antibiotiques différents respectivement) pour les isolats analysés.

Cette étude porte à notre connaissance que les isolats de salmonelles étaient souvent résistants à au moins un antibiotique, mais essentiellement aux quinolones (acide nalidixique), et aux anciennes molécules telles que les tétracyclines. Ce travail nous a rapporté aussi l'isolement de *S.kentucky* résistant aux fluoroquinolones, qui a été récemment trouvé comme clone émergent dans certains pays du nord-Africain.

Les taux de la résistance sont aussi remarquables pour les autres espèces des entérobactéries. La recherche phénotypique d'entérobactéries productrices de BLSE a permis de révéler cinq souches d'*E.coli* avec un pourcentage de 1,96% (5/254). De plus, la majorité de ces souches

EBLSE présentent des niveaux de résistance élevés à la plupart des classes d'antibiotiques testés (co-résistance), à l'exception de la gentamycine qui reste active sur toutes les souches étudiées. Ce qui est surprenant dans cette étude, ce sont des isolats associant les phénotypes BLSE et colistine R.

Au terme de cette étude exploratrice, il apparaît clairement que l'évolution de la résistance aux différentes classes d'antibiotiques utilisés dans les élevages avicoles est accompagnée de l'occurrence de l'association de plusieurs mécanismes de résistances, en raison de l'usage abusif et irraisonné de ces antimicrobiens exerçant ainsi une pression élevée de sélection de souches résistantes.

Cette étude ne reste que préliminaire. Elle pourrait être complétée par des recherches génotypiques plus profondes, pour tracer avec précision la persistance et la diffusion des gènes de résistances et particulièrement celles des souches multi-résistantes, afin d'espérer diminuer leur incidence en santé publique.

Recommendations

Recommandations

A la lueur des conclusions de cette étude, il nous paraît nécessaire de suggérer l'adoption de certaines mesures qui permettraient de lutter contre l'émergence et la persistance des résistances bactériennes aux antibiotiques qui présentent une menace réelle pour la santé publique :

1. La mise en œuvre d'une antibiothérapie réfléchie et raisonnée tenant compte des profils de résistances des bactéries isolées.
2. L'organisation de l'utilisation anarchique des antibiotiques chez les animaux : utiliser moins et mieux les antibiotiques et qu'après prescription par le vétérinaire.
3. Il serait intéressant de réaliser une étude épidémiologique à l'échelle nationale impliquant la majorité des régions du pays, et sur une banque de souches assez importante en humaine et en aviaire qui permettrait de maîtriser les souches multi-résistantes.
4. Il est temps aux scientifiques et chercheurs de trouver de nouvelles approches pour la thérapie à part les antibiotiques (soit des nouvelles molécules antibactériennes, soit la phagothérapie, soit des extraits de plantes médicinales,.....), afin de franchir toutes les impasses thérapeutiques.

Références
bibliographiques

Références bibliographiques

1. Aarestrup, F. M., Hendriksen, R. S., Lockett, J., Gray, K., Teates, K., Mc Dermott, P. F., White, D. G., Hasman, H., Sorensen, G., Bangtrakulnonth, A., Pornreongwong, S., Pulsrikarn, C., Angulo, F. J., Gerner-Smidt, P. 2007. International spread of multidrugresistant *Salmonella Schwarzengrund* in food products. *Emerg. Infect. Dis*; 13, 726-731.
2. Abraham, E. P., and Chain, E. 1940. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature*; 146: 837.
3. Acar, J., Rostel B., 2001. Antimicrobial resistance: an overview. *Rev. Sci. Tech.*; 20(3) : 797-810.
4. AFSSA. 2006. Rapport du groupe de travail "Antibiorésistance". [En ligne]. Maisons-Alfort : AFSSA, 214 pages. Disponible sur : www.anses.fr/Documents/SANT-Ra-ABR.pdf
5. Aggad, H., Ahmed Ammar, Y., Hammoudi, A. and Kihal, M. 2010. Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens with colibacillosis. *Global Veterinaria* 4 (3): 303-306.
6. Alanis, A.J., 2005. Resistance to antibiotics: are we in post-antibiotic Era? *Archives of Medical Research*; 36: 697-705.
7. Algroud, R. 2009. Contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques en élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine : Caractérisations phénotypiques et génotypiques par ERIC-PCR, IS-PCR et PFGE. *Thèse doctorat* ; 148 P. Algérie.
8. Ambler, R.P. 1980. The structure of β -lactamases. *Phil Trans R Soc Lond Biol Sci.*; 289: 321- 331.
9. Andremont, A. 2002. Pression de sélection antibiotique, flores commensales et évolution de la résistance. *J PEDIATR Puériculture* ; 15 : 160-5.
10. Anhalt, JP., Fenselau, C. Identification of bacteria using mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 1975 Feb; 47(2):219-25.
11. Aragaw, K., Molla, B., Muckle, A., Cole, L., Wilkie, E., & Poppe, C. 2007. The characterization of *Salmonella* serovars isolated from apparently healthy slaughtered pigs at Addis Ababa abattoir, Ethiopia. *Preventive Veterinary Medicine*; 82, 252–261.
12. Arlet, G., and Philippon, A. 2003. Les nouvelles β -lactamases à l'aube du troisième millénaire. *Rev Franç Lab.*; 352: 41-55.

13. Arnold, M.E., Carrique-Mas, J.J. and Davies R.H., 2009. Sensitivity of environmental sampling methods for detecting *Salmonella enteritidis* in commercial laying flocks relative to the within-flock prevalence. *Epidemiol. Infect.*; 138: 330-339.
14. Avril, J. M., Dabernat, H. et Monteil, D. H., 2000. Bactériologie clinique. 3^{ème} Ed. Ed Ellipses. Paris. 602 P.
15. Avril, J.L, Eaucher, J.L. 2002. Bactériologie Générale et Médicale. Edition Ellipses Marketing, S A ; 242-248.
16. Babai, R., Blum-Oehler, G., Stern, B.E., Hacker, J. and Ron, E.Z. 1997. Virulence patterns from septicemic *Escherichia coli* O78 strains. *FEMS Microbiol. Lett.*; 149: 99-105.
17. Barrial, K., and Scotet, J. 2006. Classification raisonnée des β -lactamases chez les bacilles Gram négatif. Perspective d'évolution. *Tigaud de bactériologie*; 3-10.
18. Barrow, P.A. 1999. Virulence of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in humans and animals, Iowa State University Press, Ames, USA, pp 171-183
19. Barrow, P.A. and Lovell, M.A. 1991. Experimental infection of egg laying hens with *Salmonella* Enteritidis phage type four. *Avian Pathol.*; 20: 335-348.
20. Bell, C Et Kyriakides, A. 2002. Salmonella in: Foodborne Pathogens. Hasards, risk analysis and control. *Woodhead Publishing Limited* ; 307-334.
21. Belmahdi, M., Bakour, B., Al Bayssari, B., Touati, A., Rolain, J., M., 2016. Molecular characterisation of extended-spectrum béta-lactamase- and plasmid AmpC-producing *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Bejaia, Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*; 6: 108–112.
22. Bennett, P. M. 2008. Plasmid encoded antibiotic resistance: Acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *Br J Pharmacol*; 153.
23. Ben Redjeb, S., Ben Hassen, A., Hammami, A., and Kechrid, A., 2000. Epidémiologie des résistances bactériennes en Tunisie. “Résistance aux antibiotiques”. *Press. Méd*; 1-5.
24. Benameur, Q., 2011. Antibiorésistance des entérobactéries d'origine aviaire. *Mémoire de magister*; 87 P. Algérie.
25. Benameur, Q., Ben-Mahdi, M.H., Boutaiba, B.M., Tali-Maamar, H., A. F., Guettou, B. and Rahal, K. 2016. Analysis of high levels of multidrug resistant *Escherichia coli* from healthy broiler chickens in Western Algeria. , *African Journal of Microbiology Research*; Vol. 10(42): 1792-1797.

26. Beraud, J., 2001. Le Technicien d'Analyses Biologiques. *Edition Technique et Documentation, Lavoisier, Paris* : 961-996.
27. Bessard G., 2004. Pharmacologie des antibiotiques. Faculté de médecine de Grenoble. Université Joseph Fourier. DCEM I. Sur le lien: www-sante.ujfgrenoble.fr/SANTE/pharma/site.fac/diaporama/antibio2.ppt.
28. Bidet, P. et Bingen, E. 2007. Enterobacteriaceae. In : Denis, F., Ploy, M.C., Martin, C., Bingen, E. et Quentin, R. Bactériologie médicale: Techniques usuelles. *Ed Elsevier Masson*; Paris. P: 295-322.
29. Blanco, J.E., Blanco, M., Mora, A. and Blanco, J. 1997. Production of toxins (enterotoxins, verotoxins, and necrotoxins) and colicins by VT strains isolated from septicemic and healthy chickens: relationship with in vivo pathogenicity. *J. Clin. Microbiol.*; 35: 2953- 2957.
30. Bonnet, R. 2004. Growing group of extended-spectrum-beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother*; 48: 1–14.
31. Bories, M.G. Et Louisot, P. 1998. *Rapport concernant l'utilisation d'antibiotiques comme facteurs de croissance dans l'alimentation animale.*
32. Borne, P.M. 1998. Les colibacillooses avicoles: des bactéries toujours à l'affût. *Afrique Agriculture*; 83 P.
33. Botto, H. 2003. Infections urinaires nosocomiales de l'adulte : conférence de consensus 2002 >, texte court. *Médecine et maladies infectieuses*; 33 (2003) 370–375.
34. Bouchrif, B., Karraouan B., Ennaji, M. M., Timinouni, M. Quinolones-resistant Salmonella spp. in Casablanca – Morocco, (2008). *Médecine et maladies infectieuses* ; 38 : 615–616.
35. Bouthy, H. 1988. Diagnostic sérologique de l'infection à SPG. *Rec Med Vet* ; 213-220.
36. Bouvet, P. and Grimont, P. 2003. Données de surveillance 1999 du Centre National de Référence des *Salmonella* et des *Shigella*. France 2000. Surveillance nationale des maladies infectieuses, p 145-53. In VS : Saint-Maurice.
37. Bouzidi, N. 2013. L'épidémiologie des infections des élevages de poules pondeuses des régions d'annaba et el-tarf par les salmonelles : Sous-typage moléculaire et Mécanismes de résistance aux antibiotiques des souches isolées. *Thèse doctorat* ; 188 P. Algérie.

38. Bradford, P.A. 2001. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* ; 14: 933-51.
39. Bree, A., Dho, M., Lafont, J.P. 1989. Comparative infectivity for axenic and specific pathogen free chickens of O2 *Escherichia coli* strains with or without virulence factors. *Avian Dis.*; 33: 134-139.
40. Brisabois, A. 2001. Intérêt et limites des techniques de caractérisation des *salmonella*. *Epidémiol. Et Santé Anim.* ; 31-42.
41. Brisse, S., and Verhoef, J. 2001. Phylogenetic diversity of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* clinical isolates revealed by randomly amplified polymorphic DNA, *gyrA* and *parC* genes sequencing and automated ribotyping. *Int J Syst Evol Microbiol.* 51: 915-924.
42. Bryskier, A. 1999. Antibiotiques. Agent antibactériens et antifongiques. *Ellipses* ; Paris. p : 54 : 436-445.
43. Carbonelle, B., Denis, F., Marmonier, A., Pinon, G., Vargues, R. Bactériologie médicale. Techniques usuelles. SIMEP SA, Paris, 1987 :87-98 ; 121-136.
44. Cardinale, E., Perrier, J.D., Aidara, A., Tall., Coudert, C., Colin, M. 2002. *Salmonella spp*, AFSSA.
45. Carlier, V. et Lagrange, P. 2001. *Salmonella*, service d'information alimentaire, *H.C.S. International*; Paris. pp: 84.
46. CA-SFM. 2014. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Sur le lien : <http://www.sfm.asso.fr/>.
47. Chauvin, C. Usage des antibiotiques et résistance bactérienne en élevage de volailles, *thèse de doctorat sous la direction de Pascal Sanders soutenue à l'Université Rennes 1, p.25. 2009.* Available on: <http://www.theses.fr/2009REN1B122>.
48. Cavallo, J.D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., and Garrabé, E. 2004. Bêtalactamines. *EMCMaladies infectieuses*; 1: 129-202.
49. Chopra, I., O'Neill, A., and Miller, K. 2003. The role of mutators in the emergence of antibiotic-resistant bacteria. *Drug Resist Updates*; 6: 137-145.
50. Clinquart, A., Daube, G. Et Korsak, N. 2004. *Salmonella spp* dans les denrées alimentaires d'origine animales, un réel problème de santé publique. *Ann. Méd. Vét.* ; Vol. 148, 174-193.

51. Collard, J. M., Bertrand, S., Dierick, K., Godard, C., Wildemaewe, C. et Vermeersch, K. 2007. Drastic decrease of *Salmonella* Enteritidis isolated from humans in Belgium in 2005, shift in phage types and influence on foodborne outbreaks. *Epidemiology and Infection*; 1–11.
52. Coque, T., Baquerot, F., and Canton, R. 2008. Increasing prevalence of ESBL – producing Enterobacteriaceae in Europe. *Eurosurveillance*; 13(47): 1–11.
53. Cox, N.A., Bailey, J.S., Mauldin, J.M., Blankenship, L.C. and Wilson, J.L., 1991. Extent of *Salmonellae* contamination in breeder hatcheries. *Poult. Sci*; 70: 416-418.
54. Darwin, K.H. and Miller, V.L., 1999. Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa. *Clin. Microbiol. Rev*; 12: 405-428.
55. Datta, N., and Kontomichalou, P. 1965. Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature*; 208: 239-241.
56. Davies, J. 1997. Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants; 207:15-27.
57. Davison, J. 1999. Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasmid*, 42:73-91.
58. Decousser, J.W., Poirel, L., and Nordmann, P. 2001. "Characterization of a chromosomally encoded extended-spectrum class A béta-lactamase from *Kluyvera cryocrescens*". *Antimicrob. Agents Chemother* ; 45(12): 3595-3598.
59. Denis, F., Ploy, M-C., Martin, C., et al. (2007). Bactériologie médicale. Ellipses. . 2ème Edition. 573p.
60. Desmidt, M., Ducatelle, R. and Haesebrouck, F. 1997. Pathogenesis of *Salmonella* Enteritidis phage type four after experimental infection of young chickens. *Vet. Microbiol*; 56: 99-109.
61. Desmidt, M., Ducatelle, R. and Haesebrouck, F. 1998. Immunohistochemical observations in the ceca of chickens infected with *Salmonella* Enteritidis phage type four. *Poult. Sci*; 77: 73-74.
62. Devie, P., Le Goaziou, A., Divol, A., Olivon, M., Gilbert, G., Petit, J. et Laurent, S. 2006. *Les antibiotiques dans l'alimentation animale* ; 1-30.
63. Dho, M., Lafont, J.P. 1984. Adhesive properties and iron uptake ability in *Escherichia coli* lethal and non lethal for chicks. *Avian Dis.*; 28: 1016-1025.
64. Dho-Moulin, M., Fairbrother, J.M. 1999. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet. Res.*; 30: 299- 316.

65. Dho-Moulin, M., Van Den Bosch, J.F., Girardeau, J.P., Bree, A., Barat, T., Lafont, J.P. 1990. Surface antigens from *Escherichia coli* O2 and O78 strains of avian origin. *Infect. Immun.*; 58: 740-745.
66. Dixième Rapport d'évaluation, 2009. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. *Projet de l'Organisation Mondiale de la Santé*. 139 p.
67. Donval, J.C. 2006. Les infections à *Escherichia coli* chez les poules pondeuses. *Filières Avicoles*; 120-123.
68. Dozois, C.M., Chanteloup, N., Dho-Moulin, M., Bree, A., Desautels, C., Fairbrother, J.M. 1994. Bacterial colonization and in vivo expression of F1 (Type 1) fimbrial antigens in chickens experimentally infected with pathogenic *Escherichia coli*. *Avian Dis.*; 38: 231-239.
69. Dozois, C.M., Dho-Moulin, M., Bree, A., Fairbrother, J.M., Desautels, C., Curtis 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.
70. Dozois, C.M., Fairbrother, J.M., Harel, J., Bosse, M. 1992. Pap- and pil-related DNA sequences and other virulence determinants associated with *Escherichia coli* isolated from septicemic chickens and turkeys. *Infect. Immun.*; 60: 2648-56.
71. 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.
72. Drame, B., Microméthode d'identification et d'étude de la sensibilité des entérobactéries : Intérêts thérapeutiques. *Thèse Pharm.*, Dakar, 2001 ; n° 86.
73. Drugdová, Z. and Kmet', V., 2013. Prevalence of β -lactam and fluoroquinolone resistance, and virulence factors in *Escherichia coli* isolated from chickens in Slovakia. *Biologia*; volume 68, *Issue 1*, pp 11–17.
74. Elfadil, A.A., Vaillancourt, J.P., Meek, A.H., Julian, R.J., Gyles, C.L., 1996. Description of cellulitis lesions and associations between cellulitis and other categories of condemnation. *Avian Dis.*, 40: 690-698.
75. Elgroud, R., 2009. Contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques en élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine : Caractérisations phénotypiques et génotypiques par ERIC-PCR, IS-PCR et PFGE. *Thèse doctorat* ; 148 P. Algérie.

76. El Houadfi, M. and Zekhnini, H. Drug resistance of *E.coli* isolated from day old broiler chicks in Morocco. *Proceeding of the 16th congress of WPA. Marrakech.* 2009.
77. Ellis, M.G., Arp, L.H., Lamont, S.J. 1988. Serum resistance and virulence of *Escherichia coli* isolated from turkeys. *Am. J. Vet. Res.*; 49: 2034-2037.
78. Emery, A., Nagaraja, K.V., Shawd, P., Newman, J.A., White, D.G. 1992. Virulence factors of *Escherichia coli* associated with colisepticemia in chickens and turkeys. *Avian Dis.*; 36, 504-511.
79. Euzeby, J.P. 1997. Les salmonelles et les salmonelloses aviaires dues aux sérovars ubiquistes. *Revue Méd. Vét.*; 61-76.
80. Fauchère, J. L. et Avril, J. L. 2002. Bactériologie générale et médicale. *Ed Ellipses* ; Paris. 368P.
81. Ferron, A. 1994. Chapitre 76 : La résistance des bactéries aux antibiotiques. *In Bactériologie médicale. 15th ed.*, Ed. C. et R., Paris, 12 pages.
82. François, D., Marie-cecile, P., Christian, M., Edouard, B., Roland, Q., 2007. Bactériologie médicale. Techniques usuelles : 295-321.
83. Gast, R.K. 2003. Salmonella: Paratyphoid infections. In: *Diseases of poultry, 11th ed.*; chap.16. Iowa state press, Blackburn publishing compagny.
84. Gniadkowski, M. 2001. Evolution and epidemiology of extended spectrum beta-lactamases and ESBL producing micro-organisms. *Clin. microbial infect*; 7: 557-608.
85. Golden, N. J., Marks, H. M., Coleman, M. E., Schroeder, C. M., Bauer, N. E., Jr., & Schlosser, W. D. 2008. Review of induced molting by feed removal and contamination of eggs with *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*. *Veterinary Microbiology*; 131: 215–228.
86. Gorden, R.F. 1979. Pathologies des volailles, Maloine S.A. Editeur, 21-36.
87. Gradel, K.O., Rattenborg, E. 2003. A questionnaire-based retrospective field study of persistence of *Salmonella Typhimurium* in Danish broiler houses. *Prev. Vet. Med.*; 56,267-284.
88. Grall, N., Andremont, A. et Armand-Lefèvre, L. 2011. Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse. *Journal des Anti-infectieux*; 13 : 87-102.

89. Gross, W.G. 1994. Diseases due to *Escherichia coli* in poultry. In: GYLES C.L. (Eds), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. *Cab international: Wallingford*; 237-259.
90. Guardabassi, L. and Kruse, H. 2008. Principles of prudent and rational use of antimicrobials in animals; p. 1-12. In L. Guardabassi, L.B. Jensen, and H. Kruse (ed.), *Guide to Antimicrobial Use in Animals*. Blackwell Publishing, Ames.
91. Guerin, J. et Boissieu, C., 2006. Les colibacilloses ou infections à *Escherichia coli*, avicompus, Mise à jour : 30.06.08.
92. Haeggman, S., Löfdahl, S., Paauw, A., Verhoef, J., and Brisse, S. 2004. Diversity and evolution of the class A chromosomal beta-lactamase gene in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother*; 48: 2400-2408.
93. Hafed, Z., Benguedour, R., Aboussaleh, Y., Zeghari, L., Aouane1, M., Berrid, N., Abouchouaib, N., Sbaibi, R. 2016. Profil d'antibioresistance d'*Escherichia coli* d'origine aviaire: cas de poulet de chair dans la région de grande Casablanca – Maroc. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*; ISSN 2429-5396, 4: 50-54.
94. Hammond, D.S., Schooneveldt, J.M., Nimmo, G.R., Huygens, F., and Giffard, P.M. 2005. *Bla*_{SHV} genes in *Klebsiella pneumoniae*: different allele distributions are associated with different promoters within individual isolates. *Antimicrob. Agents Chemother*; 49: 256-263.
95. Hammoudi, A., Aggad, H. 2008. Antibioresistance of *Escherichia coli* Strains Isolated from Chicken Colibacillosis in Western Algeria. *Turkish J. Veterinary and Animal Sci.*; 32(2): 123-126.
96. Helmuth, R. 2000. Antibiotic resistance in *Salmonella*, p. 89-106. In A, Wray, C. Wray (ed.), *Salmonella* in domestic animals. *CABI Publishing*, New York.
97. Heyndrickx, M., Vandekerchove, D., Herman, L., Rollier, I., Grijspeerdt, K., De Zutter, L., 2002. Routes for *Salmonella* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiol. Infect*; 129: 253– 265.
98. Humbert, F. 1998. Les salmonelles in *Manuel de Bactériologie Alimentaire* ; 28-44.
99. Humbert, F. et Salvat, G. 1997. Risques de transmission des salmonelles en aviculture : Détection et prévention en Europe. *Rev. Sci. Tech. O.I.E.*; 16 (1), 83-90.

100. Humeniuk, C., Arlet, G., Gautier, V., Grimont, P., Labia, R., and Philippon, A. 2002. β - lactamases of *Kluyvera ascorbata*, probable progenitors of some plasmid-encoded CTX-M types. *Antimicrob. Agents Chemother*; 46: 3045-9.
101. Humphrey, T., 2006. Are happy chickens safer chickens? Poultry welfare and disease susceptibility. *Br. Poult. Sci*; 47: 379-391.
102. Ike, K., Kawahara, K., Danbara, H., Kume, K. 1992. Serum resistance and aerobactin iron uptake in avian *Escherichia coli* mediated by conjugative 100-megadalton plasmid. *J. Vet. Med. Sci.*; 54: 1091-1098.
103. Jacoby, G.A., and Munoz-Price, L.S. 2005. The new β -lactamases. *N Engl J Med*; 352: 380- 391.
104. Jain, R., Rivera, M. C., Moore, J. E. and Lake. J. A. 2002. Horizontal gene transfer in microbial genome evolution. *Theor Popul Biol*; 61: 489-495.
105. Jaouzi, T., Amara, A. et Mouahid, M. Evolution de l'antibiorésistance de souches d'*Escherichia coli* isolées des cas cliniques de la colibacillose du poulet de chair dans la région de Rabat-Sale-Temara.1985-2003. Association Marocaine de Pathologie Aviaire, la 4^{ème} journée scientifique ; 17 Janvier 2004.
106. Jarlier, V., Nicolas, H., Fournier, G., and Philippon, A. 1988. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev. Infect. Dis.*; 10: 867-878.
107. Jesenberger, V., Procyk, K.J., Yuan, J., Reipert, S., Baccarini, M. 2000. *Salmonella* induced caspase-2 activation in macrophages: a novel mechanism in pathogen-mediated apoptosis. *J. Exp. Med*; 192: 1035-1046.
108. Joiner, K.A. 1988. Complement evasion by bacteria and parasites. *Annu Rev Microbiol.*; 201-230.
109. Joly, B. et Reynaud, A. 2002. Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic. *Ed TEC & DOC et Ed médicales Inter Nationales*. Paris. 356P.
110. Jordan, F.T.W., Pattison M. 1996. Poultry diseases. *W. B. Saunders Company*: London, 38-43.
111. Kaci, A., Cheriet, F., 2013. Analyse de la compétitivité de la filière de viande de volaille en Algérie: tentatives d'explication d'une déstructuration chronique, *New mediterr.*; 2 :11-21.

112. Kaiser, P., 1994. Avian cytokines. In: Davison T.F., Morris T.R. and Payne L.N. (eds.) *Poultry Science Symposium Series*, volume 24: Poultry immunology, Carfax Publishing Company, Oxfordshire, England; pp 83-114.
113. Kechih. 2010. Données du réseau de surveillance de résistance aux antibiotiques en Algérie. Available on : <http://www.sante.dz/aarn>.
114. Klasing, K.C., 1998. Avian macrophages: regulators of local and systemic immune response. *Poult. Sci.*; 77: 983-989.
115. Knothe, H., P. Shah, V. Krcmery, M. Antal, and Mitsuhashi, S. 1983. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *J Infect.*; 11:315-317.
116. Kumar, A., and Schweizer, H.P. 2005. Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Adv Drug Delivery Rev*; 57: 1486-1513.
117. Lafont J.P., Dho M., D'hauteville H.M., Bree A., Sansonetti P.J. 1987. Presence and expression of aerobactin genes in virulent strains of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*; 55: 193-197.
118. Lagha, N., 2015. « Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat » *Thèse doctorat* ; 84 p. Algérie.
119. Le Hello, S., Hendriksen, R.S., Doublet, B., Fisher, I., Nielsen, E.M., et al. 2011. International spread of an epidemic population of *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 resistant to ciprofloxacin. *J Infect Dis*; 204: 675–684.
120. Lecoanet, J. 1992. Salmonelloses aviaires In : Brugere-Picoux J. et Silim A. Manuel de pathologie aviaire Ed. Chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour *Ecole Nationale vétérinaire d'Alfort*, 255-35.
121. Lee, H., Yong, D., Yum, J.H., Roh, K.H., Lee, K., Yamane, K., Arakawa, Y., and Chong, Y. 2006. Dissemination of 16S rRNA methylase-mediated highly amikacin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinobacter baumannii* in Korea, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*; 56: 305-312.
122. Leotard, S. et Negrin, N. 2010. Epidémiologie des entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre étendu (E-BLSE) au centre hospitalier de Grasse (2005–2008). *Pathologie Biologie*; 58 : 35-38.
123. Liljebjelke, K.A., Hofacre, C.L., Liu, T., White, D.G., Ayers, S., Young, S., et Maurer, J.J. 2005. Vertical and Horizontal transmission of *Salmonella* within

integrated broiler production system. *Foodborne Pathogens and Disease*; Vol.2, n°1: 90-102.

124. Liu, Y.Y., Wang, Y., Walsh, T.R., et al. 2015. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *MCR-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*; published online 18Nov. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7).
125. Livermore, D.M. 1995. "Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance." *Clin Antimicrob Chemother*; 59(2): 165-174.
126. Livermore, D.M. 2003. "Bacterial Resistance: Origins, Epidemiology, and Impact," An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.*; 36(1): 11– 23.
127. Livermore, D.M., Canton, R., Gniadkowski, M., Nordmann, P., Rossolini, G.M., Arlet, G., Poirel, L., and Woodford, N. 2007. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Microbiol Rev.*; 8(4): 557-584.
128. Li, X-Z. et Nikaido, H. 2004. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*; 64:159-204.
129. MADR, (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural), 2011. *Statistiques agricoles, séries A et B*. Alger, Algérie.
130. Majtán, V., Majtán, T., Majtán, J., Szabóová, M., & Majtánová, L. 2006. *Salmonella enterica* serovar *Kentucky*: Antimicrobial resistance and molecular analysis of clinical isolates from the Slovak Republic. *Japanese Journal of Infectious Diseases* ; 59: 358–362.
131. Manie, T., Khan, S., Brozel, V. S., Veith, W. J., and Gouws, P. A. 1998. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from slaughtered and retail chickens in South Africa. *Letter Applied Microbiology*; 26: 253–258.
132. Mayer, K., Opal, S., and Medeiros, A. 2000. Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th edition, Churchill Livingstone; 2: 236-253.
133. Medeiros, A.A. 1984. β -lactamases. *Bnt. Med. Buli*; 40: 18-27.
134. Mellata, M., Dho-Moulin, M., Dozois, M. C., Curtiss, R. 3rd, B. Lehoux, and J. M. Fairbrother. 2003. Role of avian pathogenic *Escherichia coli* virulence factors in bacterial interaction with chicken heterophils and macrophages . *Infect. Immun*; 71:494-503.

135. Messaï, C.R., Khelef, D., Boukhors, K.T., Radji, N., Goucem, R. and Hamdi, T-M. 2013. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* strains isolated from broiler chickens affected by colibacillosis in Setif. *African Journal of Microbiology Research*; Vol. 7(21): 2668-2672.
136. Millemann, Yves. 1998. Les marqueurs épidémiologiques des salmonelles. *Vte. Res*; 3-19.
137. Molla, B., Berhanu, A., Muckle, A., Cole, L., Wilkie, E., Kleer, J., et al. 2006. Multidrug resistance and distribution of *Salmonella* serovars in slaughtered pigs. *Journal of Veterinary Medicine*; 53, 28–33.
138. Naiemi, N.A., Duim, B., Savelkoul, P.H., Spanjaard, L., De Jonge, E., Bart, A., Vandenbroucke-Grauls, C.M., and de Jong, M.D. 2005. Widespread transfer of resistance genes between bacterial species in an intensive care unit: implications for hospital epidemiology. *J Clin Microbiol*; 43(9): 4862-4864.
139. Nakamura K., Cook J.K., Frazier J.A., Narita M. *Escherichia coli* multiplication and lesions in the respiratory tract of chickens inoculated with infectious bronchitis virus and/or *Escherichia coli*. *Avian Dis.*, 1992, 36: 881-890.
140. Nayak, R., Stewart, T., Wang, R.F., Lin, J., Cerniglia, C.E., Kenney, P.B. 2004. Genetic diversity and virulence gene determinants of antibiotic-resistant *Salmonella* isolated from preharvest turkey production sources. *Int. J. Food Microbiol* ; 91: 51–62.
141. Nordmann, P., Gniadkowski, M., Giske, C. G., Poirel, L., Woodford, N., Miriagou, V. and the European Network on Carbapenemases. Identification and screening of carbapenemase producing Enterobacteriaceae. European society of clinical microbiology and infectious diseases. *Clinical Microbiology and Infection*; (2012) 18: 432-438.
142. Ochman, H., Lawrence, J.G. and Groisman, E.A. 2000. Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. *Nature*; 405:299-304.
143. Olaitan, A.O., Chabou, S., Okdah, L., Morand, S., Rolain, J.M. 2016. Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis.*; 16: 147.
144. Oyetunde, O.O.F., Thomson, R.G., Carlson, H.C., 1978. Aerosol exposure of ammonia, dust and *Escherichia coli* in broiler chickens. *Can. Vet. J.*, 19: 187-193.

145. Parreira, V.R., Arns, C.W., Yano, T. 1998. Virulence factors of avian *Escherichia coli* associated with swollen head syndrome. *Avian Pathol.*, 27, 148-154.
146. Parvez, M. A. K., Marzan, M., Liza, S. M., Mou, T. J., Azmi, I. J., Shahedur Rahman, M. and Mahmud, Z. H. 2016. Prevalence of inhibitor resistant beta-lactamase producing *E. coli* in Human and Poultry Origin of Bangladesh. *J Bacteriol Parasitol* ; Volume 7, Issue 2, ISSN: 2155-9597 JBP.
147. Paterson, D.L., and Bonomo, R.A. 2005. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* ; 18: 657-686.
148. Pattison, M., Chettle, N., Randall, C.J., Wyeth, P.J. 1989. Observations on swollen head syndrome in broiler and broiler breeder chickens. *Vet. Rec.*, 125, 229-231.
149. Philippon, A., and Arlet, G. 2006. β -Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! *Ann Biol Clin* ; 64(1): 37-51.
150. Ploy, M.C., Gassama, A., Chainier, D., Denis, F. 2005. Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* ; 20 : 343–352.
151. Pourbaksh, Sa., Dho-Moulin, M., Bree, A., Desautels, C., Martineau-Doize, B., Fairbrother, J.M. 1997. Localization of the in vivo expression of P and F1 fimbriae in chickens experimentally inoculated with pathogenic *Escherichia coli*. *Microb. Pathog.*; 22: 331-41.
152. Projet europeen fair6-CT98-4093 Recherche systématique de la sérotypie et de la biotypie des APEC. Recherche systématique de facteurs de virulence connus et présents aussi chez d'autres espèces (adhésines, toxines).
153. Provence, D.L., Curtiss III R. 1994. Isolation and characterization of a gene involved in hemagglutination by an avian pathogenic *Escherichia coli* strain. *Infect. Immun.*; 62: 1369-1380.
154. Quatorzième rapport d'évaluation, 2012-2013. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. *Projet de l'Organisation Mondiale de la Santé*. 216 p. disponible en : www.sante.dz/aarn/index
155. Rahmatallah, N. Nassik, S., El rhaffouli, H., Lahlou, A.I. et El Houadfi, M., 2013. Antibioresistance d'*Escherichia coli* d'origine Aviaire: situation actuelle et Evolution. 24/05/2014. 7^{ème} journée scientifique de l'AMPA (association Marocaine de pathologie aviaire).

156. Regnault, J.P. 2002. Elément de Microbiologie et d'Immunologie. *Décarie édition Inc, Rapport légal, 3ème trimestre*, 885-890.
157. Resapath.2010. Données du réseau d'épidémiologie de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales en France. Available on [:https://www.resapath.anses.fr/](https://www.resapath.anses.fr/)
158. Robin, F., Gibold, L., and Bonnet, R. 2012. Résistances naturelles et acquises aux β - lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne. *Revue Francophone des laboratoires* ; 445 : 47-58.
159. Robineau, B., Pierre-Y.M., Bull. 2010. *Acad. Vét. France, Tome 163 - N°3. Revue Francophone Des Laboratoires. Supplément Au N°409.*
160. Rodriguez-Villalobos, H., and Struelens, M.J. 2006. Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu: implications pour le réanimateur. *Rev Réanimation*; 15. (3): 205–213.
161. Rostagno, M. H., Wesley, I., Trampel, D. et Hurd, H. 2006. *Salmonella* prevalence in market-age turkeys on farm and at slaughter. *Poultry science*; 85(10):1838-1842.
162. Rowe-Magnus, D. A., and Mazel, D. 2001. Integrons: natural tools for bacterial genome evolution. *Curr Opin Microbiol*; 4:565-9.
163. Rubin, M. A., and Samore M. H. 2002. Antimicrobial Use and Resistance. *Curr Infect Dis Rep*; 4: 491-497.
164. Saberfar, E., Pourakbari, B., Chabokdavan, K. and Taj Dolatshani, F. 2008. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from Iranian broiler chicken, 2005-2006. *J. Appl. Poultry Res.*; 17: 302-304.
165. Salvadori, M. R., Yano, T., Carvalho, H. F., Parreirav, R., Gyles, C. L. 2001. Vacuolating cytotoxin produced by avian pathogenic *Escherichia coli*. *Avian Dis.*; 45: 43-51.
166. Schwaber, M.J, and Carmeli, Y. 2007. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*; 60: 913-920.
167. Schwartz, S., Cloeckaert, A., and Roberts, M. C. 2006. Mechanisms and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents, p. 73-98. *In F. M.*
168. Schwarz, S., and Chaslus-Dancla, E., 2001. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Vet Res* ; 32:201-225.

169. Shivaprassad, H. L. 2003. Pullorum disease and fowl typhoid. In: Diseases of poultry. 11th ed. eds. Saif, Y. M. et col. Iowa state press. USA.: 567-582.
170. Skov, M. N., Spencer, A. G., Hald, B., Petersen, L., Nauerby, B., Carstensen, B. et Madsen, M. 2004. The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and thermophilic *Campylobacter spp.* Between broiler flocks. *Avian Dis.*; 48: 9-18.
171. Skurnik, D. et Andremont, A. 2006. Antibiothérapie sélectionnante: de la théorie à la pratique. *Réanimation*; 15: 198–204.
172. Sojka, W. J., Carnaghan, R. B. A. 1961. *Escherichia coli* infection in poultry. *Res. Vet. Sci.*; 2: 340-353.
173. Sonaiy, E. B., SWAN, J. 2004. Production en aviculture familiale. *Un manuel technique. Rome*, 246-288.
174. Soussy, C. J., Cavallo, H., Chardon, C., Chidiac, P., Choutet, P., Courvalin, H., Dabernat, H., Drugeon, L., Dubreuil, and Goldstein, F. 2007. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2007, *Ed. Janvier 2007*. Société Française de Microbiologie, Paris, France.
175. Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) (OMS 2014): 7^{ème} Edition ; 179 P. Available on : <http://www.sante.dz/aarn/index.htm>.
176. Stordeur, P., Mainil, J. 2002. La colibacillose aviaire. *Ann. Méd. Vét.*; 146: 11-18.
177. Szarecka, A., Lesnock, K. R., Ramirez-M, C. A., Nicholas, H. B. et Wymore, T. 2011. The Class D b-lactamase family: residues governing the maintenance and diversity of function protein engineering. *Design & Selection*; vol. 24 no. 10 pp. 801–809,
178. Thomson, K. S. and Moland, E. S. 2000. The new β -lactamases of Gram negative bacteria at the dawn of the new millennium. *Microbes Infect*; 2: 1225–1235.
179. Tindall, B.J., Grimont, P.A.D., Garrity, G.M., Euzéby, J. 2005. Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 521-524.
180. Valancony, H., Fournier, G., Drouin, P., Toux, J. Y., Colin, P. 2001. Disinfection of cage layer houses contaminated with *Salmonella* Enteritidis. *British Poultry Science*; 42: 539-40.

181. Van de Giessen, A. W., Bouwknegt, M., Dam-Deisz, W. D. C., Van Pelt, W., Wannet, W. J. B. and Visser, G. 2006. Surveillance of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in poultry production flocks in The Netherlands, *Epidemiol. Infect.*; 134: 1266-1275.
182. Van Immerseel, F., De Buck, J., Pasmans F., Bohez, L., Boyen F., Haesebrouck, F. and Ducatelle, R. 2004. Intermittent long-term shedding and induction of carrier birds after infection of chickens early posthatch with a low or high dose of *Salmonella enteritidis*. *Poult. Sci.*, 83: 1911-1916.
183. Van Immerseel, F., DeBuck, J., Boyen, F., Pasmans, F., Bertrand, S., Collard, J. M., Saegerman, C., Hooyberchs, J., Haesebrouck, F. et Ducatelle, R. 2005. *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les oeufs: Un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. *Ann.Méd.Vét* ;149,34-48.
184. Villate, D. 1997. Manuel pratique : Maladies des volailles, *Editions France Agricole* ; 235-240 ; 242-257.
185. Vora, S., and Auckenthaler, R. 2009. Que signifie «bêta-lactamases à spectre élargi» en pratique?. *Rev Med Suisse*; 5: 1991-1994.
186. Walsh, C. 2003. Antibiotics actions, origins, resistance. *American Society for Microbiology press*, Washington, D. C.
187. Weill, F. X. 2009. Salmonella : épidémiologie, typage et résistance aux antibiotiques, *Revue francophone des laboratoires*; supplement Au N°409.
188. Weill, F. X., Guesnier, F., Guibert, V., Timinouni, M., Demartin, M., Polomack, L., and Grimont, P.A. 2006. Multidrug resistance in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium from humans in France (1993 to 2003). *J Clin Microbiol* ; 44:700-708.
189. Weldhagen, G.F., Poirel, L., and Nordmann, P. 2003. Ambler class A extended-spectrum β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob.Agents Chemother* ; 47: 2385-2392.
190. White, D.G., Wilson, R.A., San Gabriel, A., Saco, M., Whittam, T.S.1990. Genetic relationships among strains of avian *E. coli* associated with swollen head syndrome. *Infect. Immun.*, 58, 3613-3620.
191. Wolff, M., Joly-Guillou, M-L et Pajot, O. 2008. Le point sur les carbapénèmes. *Réanimation*, 17, 242-250.

192. Yala, D., Merad, A.S., Mohamedi, D et Ouar Korich, M. N. 2001. Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb n°91*.
193. Yanat, B., Machuca, J., Yahia, R. D., Touati, A., Pascual, Á., Rodríguez-Martínez, J. M. 2016. First report of the plasmid-mediated colistin resistance gene mcr-1 in a clinical *Escherichia coli* isolate in Algeria. *Int J Antimicrob Agents.*; S0924-8579(16)30260-6.
194. Yogaratnam, V. 1995. Analysis of the causes of high rates of carcass rejection at a poultry processing plant. *Vet. Rec.*, 137, 215-217.
195. Zhou, D. and Galán, J., 2001. *Salmonella* entry into host cells: the work in concert of typeIII secreted effector proteins. *Microbes Infec*; 3: 1293-1298.
196. Zogheib, E., and Dupont, H. 2005. Entérobactéries multirésistantes. *Elsevier SAS. Conférences d'actualisation*; 153-165.

Annexes

Annexes

Annexe 1: Composition des milieux utilisés

1. Milieu de pré-enrichissement

L'eau peptonée tamponnée

Composition :

-Peptone	10 g
-Chlorure de sodium(NaCl)	5 g
-Hydrogénophosphate disodique dodécahydraté (Na HPO-12HO)	9 g
(ou hydrogénophosphate disodique anhydre (Na HPO)	3,5g
-Dihydrogénophosphate de potassium (KHPO)	1,5 g
-Eau	1000 ml

2. Milieu d'enrichissement

SFB : Bouillon sélénite de sodium

Composition :

-Tryptone	5 g
-Lactose	4 g
-Hydrogénophosphate disodique dodécahydraté(Na HPO-12HO)	10 g
-Hydrogénosélénite de sodium(NaHSeO)	4 g
-Eau	1000 ml

3. Milieu d'isolement

A-Gélose hecktoen

Composition :

-Peptone	12 g
-Extrait de levure	3 g
-Sels biliaires	9 g
-Lactose	12 g
-Saccharose	12 g
-Salicine	2 g
-Chlorure de sodium(NaCl)	5 g
-Thiosulfate de sodium	5 g
-Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
-Bleu de bromothyl	65 mg
-Fuschine acide 40 mg à	100 mg

-Agar		13,5 g
-Eau(5.1.1)	1000 ml	

B-Gélose nutritive :

Composition :

-Peptone	15 g
-Extrait de viande	1 g
-NaCl	5 g
-Agar	15 g
-Eau distillée	1000 ml
-PH 7	

C-Gélose Mac Conkey :

Composition :

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

4. Milieux d'identification

4.1. Gélose de glucose- lactose- saccharose- H2S/TSI

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

Composition :

-Peptone de viande	
-Proteose peptone	15g
-Extrait de viande	5g
-Extrait de levure	3g
-Glucose	3g
-Saccharose	1g
-Lactose	10g
-Citrate de fer ammoniacal	0,3g

-NaCl	5g
-Thiosulfate de sodium	0,3g
-Rouge de Phénol	0,05g
-Agar	18g
-Eau distillée	1000ml
-pH =7,4	

4.2. Citrate de Simmons

Composition :

-Ammonium dihydrénophosphate	1g
-Phosphate dipotassique	1g
-NaCl	5g
-Citrate de Na	2g
-Sulfate de Mg	0,2g
-Bleu de bromothymol	0,08g
-Agar	18g
-Eau distillée	1000ml
-pH =6,6	

4.3. Mannitol mobilité

Milieu utilisé pour la mise en évidence de la mobilité et de l'utilisation du mannitol.

Composition :

-Peptone tryptique de viande	20g
-Mannitol	2g
-Rouge de phénol	4ml
-Agar	4g
-Eau distillée	1000ml
-pH =7,8	

4.4. Milieu Urée-Indol

Composition :

-L-tryptophane	0,3g
-KH ₂ PO ₄	0,1g
-K ₂ HPO ₄	0,1g
-Nacl	0,5g
-Urée	2,0g
-Alcool à 95°	1,0g

-Rouge de phénol à 1%	0,25g
-Eau distillée	100ml

4.5. Milieu LDC

Composition :

-L-lysine (monochlorhydrate)	5g
-extrait de levure	3g
-Nacl	5g
-Glucose 1g	
-Bromocrésol pourpre (1,6g/100ml alcool à 95°)	1ml
-Eau distillée	1L

4.6. Milieu ODC

Composition :

-L-ornithine (monochlorhydrate)	5g
-Extrait de levure	3g
-Nacl	5g
-Glucose	1g
-Bromocrésol pourpre (1,6g/100ml alcool à 95°)	1ml
-Eau distillée	1L

4.7. Milieu ADH

Composition :

-L-arginine (monochlorhydrate)	5g
-extrait de levure	3g
-Nacl	5g
-Glucose	1g
-Bromocrésol pourpre	1ml
-Eau distillée	1L

5. Milieu pour l'antibiogramme :

Mueller Hinton :

Composition :

-Extrait de viande	3g
-Hydrlysate acide de caseine	17,5 g
-Amidon	1,5 g
-Agar	16 g
-Eau distillée	1000ml

Annexe 2 : Tableau de liste des antibiotiques à testés pour les entérobactéries dans le domaine vétérinaire (OMS, 2014).

Famille	Antibiotique	Charge (µg)
Béta-lactamines	Ampicilline	10
	Amoxicilline +acide clavulanique *	(20/10)
	céfalotine	10
	Ceftiofur* / Céfotaxime	30
Tétracyclines	Tétracycline	30
Quinolones	Fluméquine / Acide nalidixique	30
	Enrofloxacin	5
	Marbofloxacin	5
	Norfloxacin	10
	Danofloxacin	5
Aminosides	Néomycine / kanamycine	30
	Gentamycine**	10
Polypeptides	Colistine	10
Sulfamides	Sulfisoxazole	30
	Triméthoprim +Sulfaméthoxazole	1,25/ 23,75
Furanes	Nitrofurantoin**	300
Phénicolés	Chloramphénicol**	30

* Antibiotique testé seulement pour la recherche des béta-lactamases

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

Annexe 3 : Tableau de lecture des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions pour entérobactéries (Espèce aviaire) (OMS, 2014).

Conditions du test

Milieu : Gélose Muller-Hinton

Inoculum : Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland

Antibiotiques testés	Charge des disques (µg)	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Ampicilline	10	≥13	14-16	≤17
Amoxicilline +acide clavulanique	(20/10)	≥13	14-17	≤18
céfalotine	10	≥14	15-17	≤18
Ceftiofur / Céfotaxime	30	≥17	18-20	≤21
Tétracycline	30	≥14	15-18	≤19
Fluméquine / Acide nalidixique	30	≥13	14-18	≤19
Enrofloxacin	5	≥16	17-20	≤21
Marbofloxacin	5	≥14	15-19	≤20
Norfloxacin	10	≥12	13-16	≤17
Danofloxacin	5	-	-	≤22
Néomycine / kanamycine	30	≥13	14-17	≤18
Gentamycine	10	≥12	13-14	≤15
Colistine	10	-	-	-
Sulfisoxazole	30	≥12	13-16	≤17
Triméthoprim +Sulfaméthoxazole	1,25/ 23,75	≥10	11-15	≤16
Nitrofurantoin	300	≥14	15-16	17
Chloramphénicol	30	≥12	13-17	18

Annexe 4: Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour la souche de référence utilisée pour le contrôle de qualité « Souche *E. coli* ATTC 25922 » (OMS, 2014).

Antibiotiques testés	Charge des disques (µg)	Diamètres critiques (mm)
Ampicilline	10	16-22
Amoxicilline +acide clavulanique	(20/10)	18-24
Céfalotine	10	15-21
Ceftiofur	30	26-31
Céfotaxime	30	29-35
Tétracycline	30	18-25
Acide nalidixique	30	22-28
Enrofloxacin	5	32-40
Marbofloxacin	5	29-37
Danofloxacin	5	29-36
kanamycine	30	17-25
Gentamycine	10	19-26
Colistine	10	11-17
Sulfisoxazole	30	15-23
Triméthoprime +Sulfaméthoxazole	1,25/ 23,75	23-29
Nitrofurantoin	300	20-25
Chloramphénicol	30	21-27

Annexe 5 : Résistance naturelle chez les principales espèces d'entérobactéries selon Le CA-SFM / EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) en octobre 2014.

Espèces	AM	AMC	C1G	GM	TET	COL	FT
<i>Klebsiella spp.</i>	R						
<i>Escherichia hermanii</i>	R						
<i>Citrobacter koseri</i>	R						
<i>Citrobacter freundii</i>	R	R	R				
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R				
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R	R				
<i>Hafnia. alvei</i>	R	R	R				
<i>Serratia marcescens</i>	R	R	R			R	
<i>Proteus mirabilis</i>					R	R	R
<i>Proteus vulgaris, et proteus penneri</i>	R		R		R	R	R
<i>Morganella morganii</i>	R	R	R		R	R	R
<i>Providancia stuartii</i>	R	R	R	R	R	R	R
<i>Providancia rettgeri</i>	R	R	R		R	R	R
<i>Yersinia enterocolitica</i>	R	R	R				

R : résistance naturelle ; AM : aminopénicillines ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; C1G : céphalosporines de 1 génération ; GM : gentamycine ; TET : tétracyclines ; COL : colistine ; FT : nitrofuranes.

Annexe 6 : Test d'oxydase

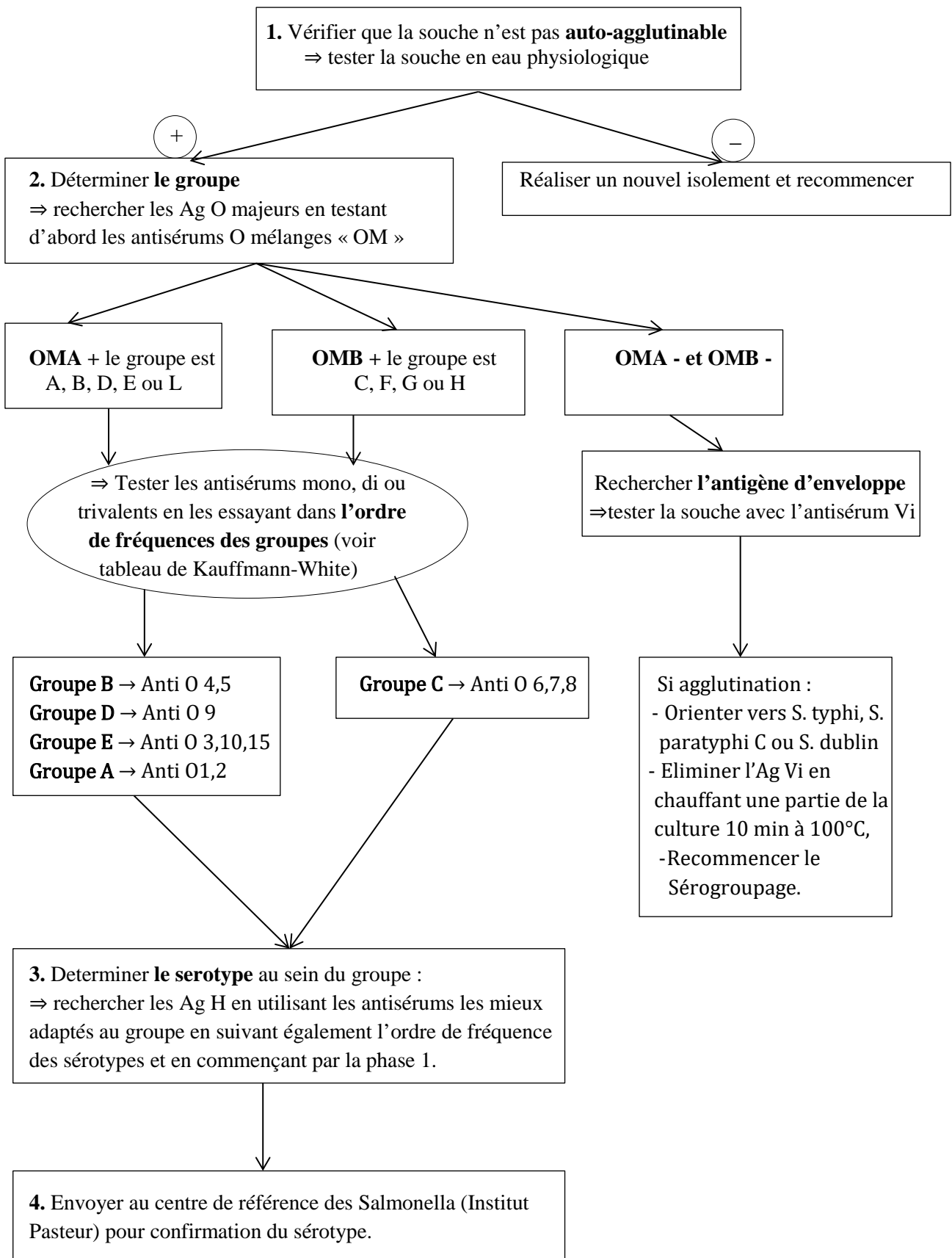


Test d'oxydase négatif (aucun virage au couleur).



Test d'oxydase positif (virage de couleur vers le violet).

Annexe7 : Conduite du sérotypage des *Salmonella* (David Schneider, 2008)



Annexe 8 : Profils biochimique d'*E.coli* sur galerie API 20E et galerie classique



Profils biochimique d'*E.coli* sur galerie API 20E

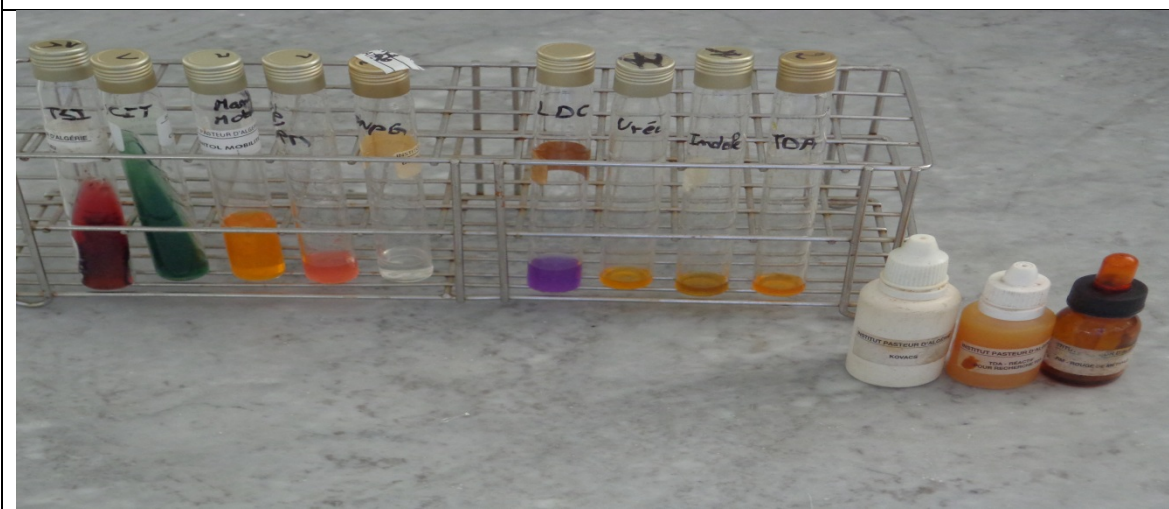


Profils biochimique d'*E.coli* sur galerie classique

Annexe 9 : Profils biochimique de *Salmonella spp.* sur galerie API 20 E et galerie classique

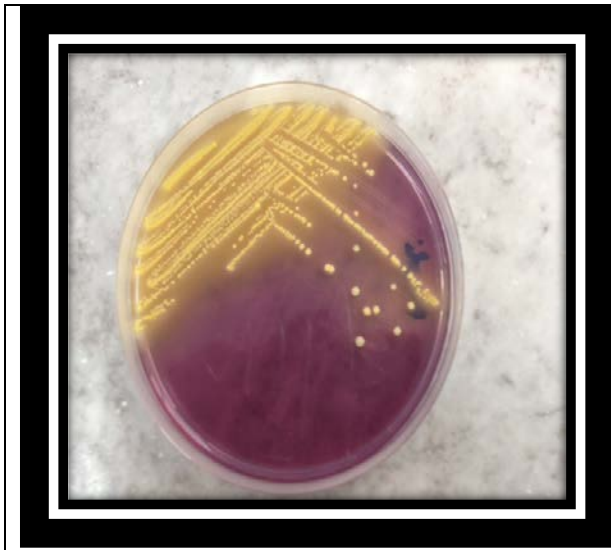


Profils biochimique de *Salmonella spp.* sur galerie API 20 E

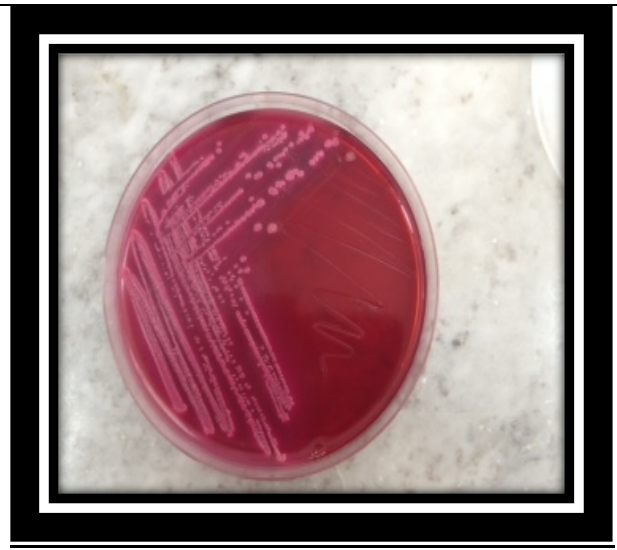


Profils biochimique de *Salmonella spp.* sur galerie classique

Annexe 10 : Caractères cultureux d'*Escherichia coli*

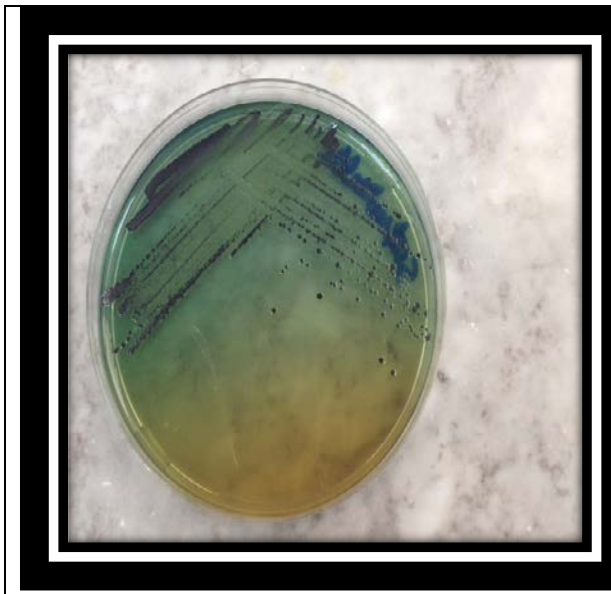


Les colonies d'*E.coli* sur milieu BCP sont jaunes lisse à bords réguliers

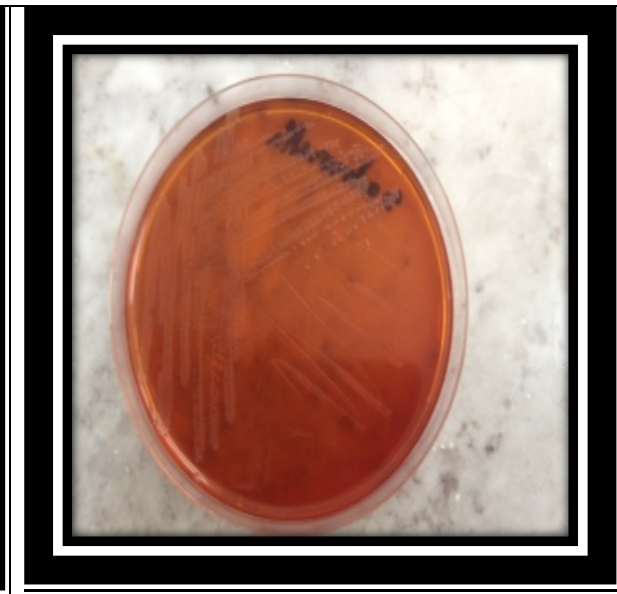


Les colonies d'*E.coli* sur milieu Mac-conkey sont lactose +, roses, rondes à aspect lisse

Annexe 11 : Caractères cultureux de *Salmonella spp*



Les colonies de *Salmonella spp* sur milieu Hektoen (HK) sont apparus rondes, lisses (Smooth : S) à bords réguliers et un diamètre de 2 à 3 mm, vertes à nuances bleuâtres et à centres noirs



Les colonies de *Salmonella spp* sur milieu Mac-conkey sont apparus lisses, à bord réguliers et de couleur crème

Annexe 12 : L'aspect des entérobactéries après coloration de Gram (-)

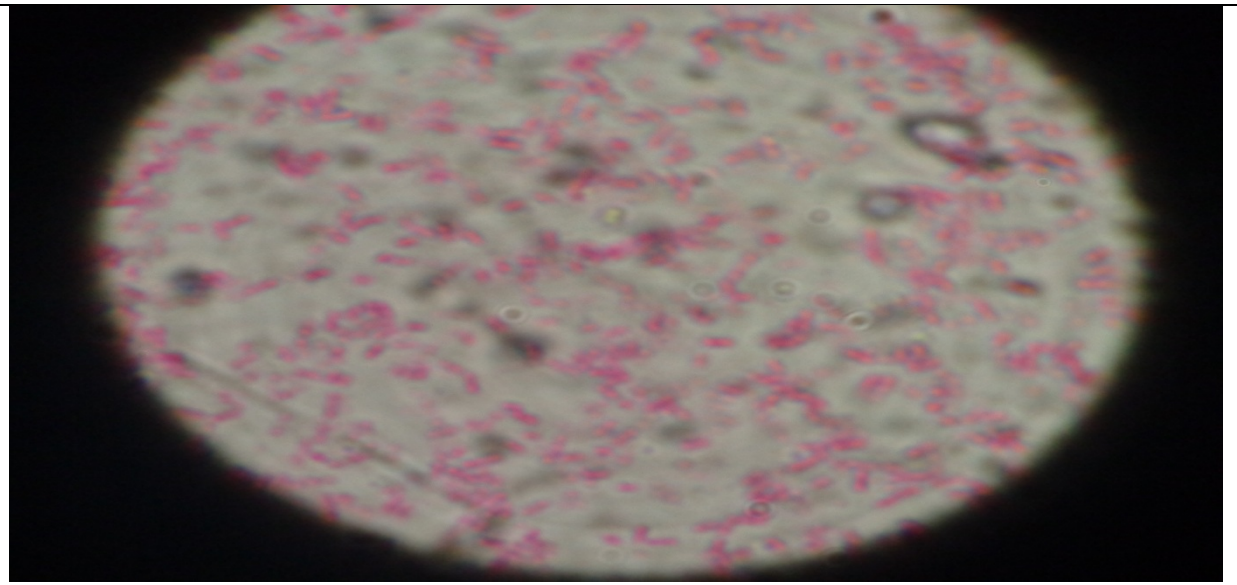



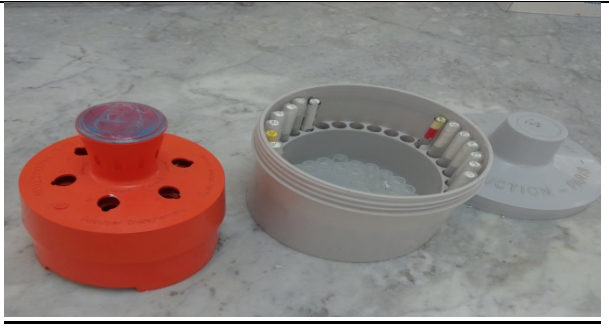
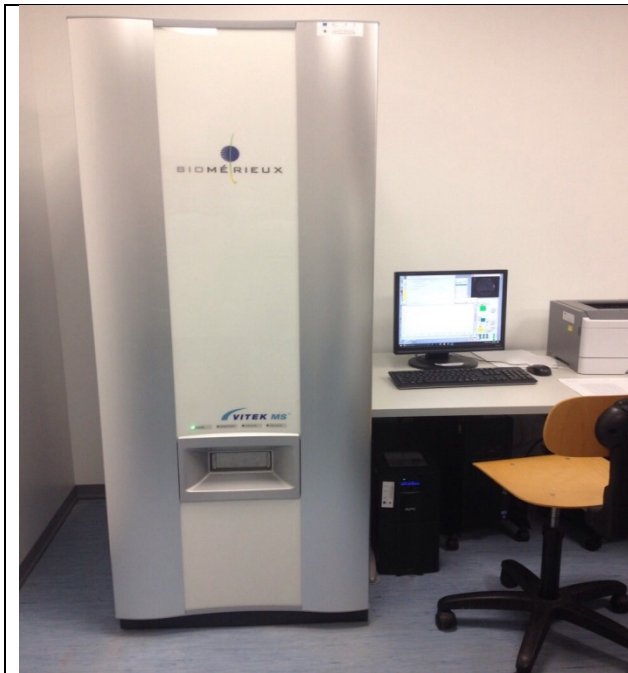


Image de visualisation microscopique des entérobactéries à Gram (-)

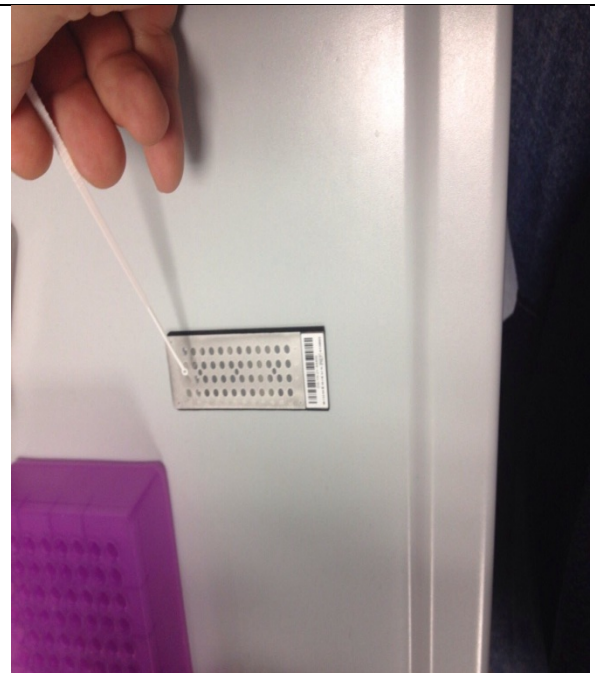
Annexe 13: Photos de quelques matériel utilisés

	
<p>Etuve (pour incubation)</p>	<p>Densitomètre (0,5 Mc farland)</p>
	
<p>Agitateur type vortex (pour homogénéisation)</p>	<p>Distributeur des disques d'antibiotiques</p>

Annexe 14: Les différentes étapes d'identification par MALDI-TOF MS



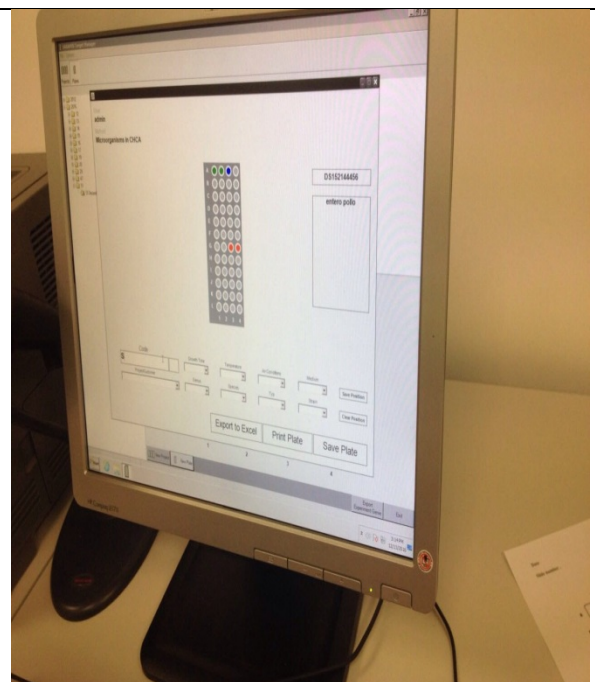
Le MALDI-TOF MS, VITEK, Bio Mérieux



Dépôt d'une seule colonie bactérienne dans chaque spot de la plaque métallique



Introduction de la cible dans l'appareillage



Traitement des données avec le logiciel Biotyper 2.0