

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida



Université Saad
Dahlab-Blida 1-

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

**L'antibiorésistance chez *Escherichia coli* isolées dans les
matières fécales des veaux**

Présenté par

Lounis Fatma

Hamouche Célia

Devant le jury :

Président :	SALHI O.	MAA	ISV-Blida1
Examineur :	AKKOU M.	MCB	ISV-Blida1
Promoteur :	SADI M.	MAA	ISV-Blida1

Année : 2018 /2019

Remerciements

Au nom de Dieu clément et miséricordieux qui par sa grâce, nous avons pu achever ce mémoire de fin d'étude du docteur vétérinaire.

Nous tenons à adresser tout particulièrement et en premier lieu notre plus sincère remerciement à notre promoteur **Dr SADI MADJID** pour avoir accepté de nous encadrer. Vue les difficultés d'encadrement que nous avons rencontrées et pour tous les conseils techniques, les encouragements, les orientations qu'il nous a prodigués durant la préparation de notre mémoire. Qu'il trouve ici notre profonde gratitude.

A **Dr SALHI OMAR**, pour nous avoir fait l'honneur d'être notre président de jury. Sincères remerciements

A **Dr AKKOU MADJID**, pour avoir accepté d'examiner notre travail. Sincères remerciements.

Nous remercions également les employés de la bibliothèque universitaire et de tous les techniciens de laboratoire.

A tous nos enseignants pour avoir élargit nos horizons de savoir et de la connaissance dans le domaine de la médecine vétérinaire.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail

Pour terminer nous souhaitons exprimer nos remerciements ainsi que nous respect à tout le personnel de l'institut universitaire de Blida.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes chers parents grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux. Je pris le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, on espérant qu'ils seront toujours fier de moi.

A mes chers frères : **BOUSSAD** et **Yacine** et mes chères sœurs : **Lilia**, **Nawal**, et **Ghania** qui me donnent le courage et l'esprit d'études.

A mon cher promoteur **Dr SADI** et sa famille, pour sa patience, ses conseils pertinents et ses encouragements fournis tout au long de ce travail.

A ma copine et binôme **CELIA**, la plus douée des « bons à rien », que Dieu te Révèle tel que tu es: Exceptionnelle.

A mes perles (les agents) : **SAMRA**, **DJEGDJIGA**, **NESRINE** et **FAIZA**, merci pour tous les souvenirs partagés, pour tous les moments inoubliables passés ensemble et ceux à venir.

A mon cher ami et frère **AMINE HSBL**, à celui qui a toujours été à mes cotés, dans les meilleurs moments ainsi que dans les pires, merci pour tout et bien plus encore. Que dieu te garde pour moi.

A mes meilleurs : **YAHIA** (singe), **ANIS**, **AZIZ** merci à toi pour tous les souvenirs partagés, pour tous les moments inoubliables passés ensemble et ceux à venir.

A tous mes enseignements tout au long de mes études.

A tous ceux qui, par un mot m'ont donné la force de continuer...

Fatma

Dédicaces

Une pensée unique et particulière,

Mes parents, sans qui, je n'en serais pas là aujourd'hui. Merci pour tout leur amour, sacrifice et leur soutien depuis toujours. Ils sont la lumière qui a illuminé mon chemin depuis ma naissance. Ils ont su me donner toutes les chances pour réussir. Qu'ils trouvent dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude.

Ma chère grande sœur OUEHCHIA, pour sa bienveillance et son amour durant toute ma vie ainsi que mon beau frère NADIR pour ses précieux conseils et tout son soutien.

Mes précieuses petites sœurs, AMINA, SOPHIA, pour leur soutien et toute la complicité qui nous unit.

Mon amour de petit frère, mon trésor BACHIR je t'aime.

Mes grands parents, qui ont toujours été là pour moi et qui ont énormément contribué à ma réussite durant toutes mes années d'études.

A la mémoire de mon grand père BACHIR, que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

A mon cher promoteur Dr SADI, pour sa patience, ses conseils pertinents et ses encouragements fournis tout au long de ce travail.

Mon binôme et meilleure amie, FATMA pour toute la joie qu'on a partagée et sans qui ce travail ne serait abouti.

Mes meilleures, DJEDJIGA, SAMRA, FAIZA, NESRINE, TAOUES pour tous les moments merveilleux inoubliables et uniques que j'ai passé avec vous je n'oublierai jamais. Vous êtes les meilleures copines au monde.

A KOUCEILA, l'ami cher que tu es. Merci pour ta confiance, tes encouragements, tes conseils et tout le soutien que tu m'as apporté.

A Mes chers amis NABIL et Achour, merci à toi pour toute ton aide

A toute ma famille, mes amis, mes collègues et toutes les personnes qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce modeste travail, merci.

Celia

Résumé

Notre travail a pour objectif l'étude du profil de résistance aux antibiotiques de plusieurs souches d'*Escherichia coli*. Un total de 50 souches provenant de différents prélèvements de matières fécales de veaux ont été isolées et identifiées et ceci sur des milieux spécifiques à l'isolement d'*E. Coli* et des milieux d'identification biochimiques. La sensibilité a été testée sur 12 antibiotiques suivant la méthode classique de l'antibiogramme en milieu gélosé Mueller-Hinton.

Les antibiogrammes ont montré de hauts niveaux de résistance pour les tétracyclines (68%). Des niveaux moyens de résistance pour amoxiciline et amoxiciline+acide clavulanique (40%) suivie de la flumiquine et bacitracine (36%). Et des niveaux bas pour cefalexine (10%) suivie de l'enrofloxacin et kanamicine (12%), sulfaméthoxazole (22%), sulfamide (20%) et sulfamidine (24%). La colistine est l'antibiotique pour lesquels, il n'y avait pas de résistances, 50 souches sont sensibles.

Par ailleurs, l'analyse des profils de résistance a révélé que parmi les 50 souches, 66% souches sont résistantes à au moins 2 antibiotiques.

Cette résistance représente un danger pour la santé animale et humaine, sachant que l'antibiothérapie reste le seul moyen pour contrôler *Escherichia coli*.

Mots clés : *Escherichia coli*, veaux, matières fécales, antibiorésistance

Abstract

Our survey aims to study the antibiotic resistance profile of several strains of *Escherichia coli*. A total of 50 strains from different samples of feces of calves were isolated and identified and this on media specific to the isolation of *E. coli* and biochemical identification media. Susceptibility was tested on 12 antibiotics following the conventional Mueller-Hinton agar susceptibility test method.

Antibiograms showed high levels of resistance for tetracyclines (68%). Mean levels of resistance for amoxicillin and amoxicillin + clavulanic acid (40%) followed by flumequin and bacitracin (36%). And low levels for cefalexin (10%) followed by enrofloxacin and kanamycin (12%), sulfamethoxazole (22%), sulfonamide (20%) and sulfamidine (24%). Colistin is the antibiotic for which, there was no resistance, 50 strains are sensitive.

Moreover, the analysis of the multi-resistance revealed that among the 50 strains, 66% strains are resistant to at least 2 antibiotics.

This resistance represents a danger for animal and human health, knowing that antibiotic therapy remains the only way to control *Escherichia coli*.

Key words: *Escherichia coli*, calves, feces, antimicrobial resistance

ملخص

مجموعه تتكون 50 سلالة من عينات مختلفة من البراز العجول وهذا على وسائل تحديد أماكن عزل مختلفة تم اختبار القابلية للتأثر على 12 مضاد حيوي وفقاً لطريقة اختبار حساسية أجار مولر-هينتون التقليدية.

أظهرت المضادات الحيوية مستويات عالية من المقاومة للتراسكلين (68%). متوسط مستويات المقاومة للأموكسيسيلينوالأموكسيسيلين + حمضكلافولانيك (40%) تليها فلوميكينوالباسيتراسين (36%). وانخفاض مستويات السيفالكسين (10%) تليها إونروفلوكساسينوكاناميسين (12%) ، سلفاميثوكساسول (22%) ، السولفاميد (20%) والسلفامدين (24%). الكوليستين هو مضاد حيوي ، حيث لم يكن هناك مقاومة ضده، ال 50 سلالة حساسة تجاهه.

بالإضافة إلى ذلك، كشف تحليل المقاومة المتعددة أنه من بين 50 سلالة، 66% من السلالات تقاوم ما لا يقل عن مضادين حيويين.

تمثل هذه المقاومة خطراً على صحة الإنسان والبشر ، مع العلم أن العلاج بالمضادات الحيوية لا يزال هو السبيل الوحيد للسيطرة على الإشريشية القولونية.

الكلمات المفتاحية: الإشريشية القولونية ، العجول ، البراز ، المقاومة للميكروبات

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Introduction..... 1

Partie bibliographique

Chapitre I: Généralités sur les entérobactéries

I.1. Définition et caractéristiques générales	3
I.2.Caractères bactériologiques.....	3
I.2.1.Caractères morphologiques	3
I.2.2.Caractères culturaux	4
I.2.3.Caractères biochimiques.....	5

Chapitre II: Généralités sur *Escherichia coli*

II.1. Historique	6
II.2. Présentation d' <i>Escherichia coli</i>	6
II.3.Classification.....	7
II.4. Habitat.....	7
II.5.Caractères bactériologiques.....	7

II.5.1.Caractères morphologiques et cultureux.....	7
II.5.2.Caractères biochimiques.....	8
II.6.Caractères antigéniques.....	9
II.6.1.Antigène somatique O.....	9
II.6.2.Antigène flagellaire H.....	9
II.6.3.Antigène de surface ou d'enveloppe K.....	9
II.7.Facteurs de virulence.....	10
II.8.Pouvoir pathogène.....	11
II.8.1. <i>Escherichia coli</i> responsables des infections extra-intestinales (ExPEC).....	12
II.8.2. <i>Escherichia coli</i> à l'origine des infections intestinales.....	12
II.8.2.1. <i>Escherichia coli</i> entérotoxigènes (ETEC).....	13
II.8.2.2. <i>Escherichia coli</i> entéro-pathogènes (EPEC).....	13
II.8.2.3. <i>Escherichia coli</i> entéro-hémorragiques (EHEC).....	15
II.8.2.4. <i>Escherichia coli</i> entéro-invasives (EIEC).....	15
II.8.2.5. <i>Escherichia coli</i> entéro-agrégatives EaggEC (AAEC).....	16
II.8.2.6. <i>Escherichia coli</i> à adhésion diffuse ou (DAEC).....	16

Chapitre III: Résistance bactérienne aux antibiotiques

III.1.Généralités sur les antibiotiques.....	18
III.1.1.Définition.....	18
III.1.2.Classification et mode d'action des antibiotiques.....	18
III.1.3.Conditions d'action des antibiotiques.....	21
III.2.Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	21
III.2.1.Définition de la résistance bactérienne.....	21
III.2.2.Types de résistance bactérienne.....	22
III.2.2.1.Résistance naturelle.....	22
III.2.2.2. Résistance acquise.....	23

III.2.3.Mécanismes de résistances aux antibiotiques.....	23
--	----

Chapitre IV: Diagnostic, Traitement et Prophylaxie de l'infection à *Escherichia coli*

IV.1.Diagnostic.....	25
IV.2.Traitement	25
IV.3.Prophylaxie.....	25

Partie Pratique

I. Objet de l'étude :.....	27
II. Matériel et méthodes :.....	27
II.1.Matériels :	27
II.1.1.Matériels non biologiques :.....	27
II.1.2.Matériels biologiques :.....	27
II.2. Méthodes :	29
II.2.1. Enrichissement :	29
II.2.2.Isolement :	29
II.2.3.Lecture et purification :.....	30
II.2.4.Identification :	30
II.2.4.1. Identification morphologique : coloration de gram.....	30
II.2.4.2. Identification biochimique :	31
II.2.4.2.1.Galerie API 20 E	31
II.2.4.2.2. Antibiogramme.....	33
III. Résultats :	36
III.1. Distribution des prélèvements en fonction de l'âge :.....	36
III.2. Résultats des antibiogrammes :	36

IV. Discussion.....	40
Conclusion et recommandations	
Références	
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau 1: Critères d'identification des genres les plus fréquemment rencontrés des entérobactéries.....	5
Tableau 2: Classification des <i>Escherichia coli</i>	7
Tableau 3: Classification des antibiotiques qui ciblent la paroi bactérienne	19
Tableau 4: Classification des antibiotiques qui ont pour cible les ribosomes.....	20
Tableau 5: Origine et nombre des échantillons des matières fécales.....	28
Tableau 6: Résultats des antibiogrammes.....	37
Tableau 7: Fréquences des multi-résistances d' <i>E .coli</i>	38

Liste des figures

Figure 1: Observation microscopiques des entérobactéries	4
Figure 2: <i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique	8
Figure3: Représentation schématique des étapes d'infection d' <i>Escherichia coli</i> entéropathogènes EPEC	14
Figure 4: Pathovar d' <i>Escherichia coli</i>	17
Figure 5: Modes de fonctionnement des antibiotiques	211
Figure 6: Photo originale utilisée pour le prélèvement des matières fécales	28
Figure 7: Photo de culture bactérienne sur gélose MacConkey.....	29
Figure 8: <i>Escherichia coli</i> sous microscope optique.....	31
Figure 9: Les réactifs ajoutés pour lire la galerie	32
Figure 10: Profil biochimique sur galerie API 20E d' <i>E. coli</i>	33
Figure11: Exemple d'antibiogramme sur gélose Muller-Hinton.....	35
Figure12: Distribution des prélèvements positifs en fonction de l'âge.....	36
Figure13: Sensibilité globale des souches vis-à-vis des antibiotiques testés.....	37
Figure14: Fréquence des multi résistances d' <i>E. Coli</i>	39

Liste des abréviations

Ag : Antigène

Antigène ECA : Enterobacterial Common antigen/antigène de kunin

Ag O : Antigène somatique

Ag H : Antigène flagellaire

Ag k : Antigène de surface ou d'enveloppe

ADH : Arginine dihydrolase

ADN : Acide Desoxy-ribonucléique

AA: Plasmide d'EaggEC

AEEC ou (A/E): Attaching and Effacing *E. coli*

Amc: Amoxiciline + Acide clavulanique

BHIB : Broth heart infusion (bouillon cœur cerveau)

CNF: Toxine Nécrosante (cytotoxic necrotizing factor)

DAEC : Escherichia. Coli à adhérence diffuse

E .coli: Escherichia coli

ETEC: Escherichia. coli entérotoxinogènes

EPEC: Escherichia. coli entéro-pathogènes

EHEC: Escherichia. coli entéro-hémorragiques

EIEC: Escherichia. coli entéro-invasives

EaggEC: Escherichia. coli entéro-agrégatives

ExPEC : Escherichia. Coli à l'origine de l'infection Extra-Intestinales

EsPA : la surface d'Escherichia. coli

GEI : Gastro-entérites infantiles

GLU : Glucose

LAC : Lactose

LDC : Lysine décarboxylase

Les formes R : Rough forms =colonies rugueuses

Les formes S: Smooth forms

LPS: Lipopolysaccharides

LT : Thermolabiles

NMEC : Méningites néonatales d'Escherichia coli

ONPG: Orthonitrophényl-B-lactamases

ODC : Ornithine décarboxylase

PDA : Phénylalanine désaminase

PTT : Purpura thrombotique et thrombocytopénique

PINV : Plasmide d'EIEC

PH : Potentiel Hydrogène

RM: Rouge de Methyl

StI: Shiga like Toxine

Stx: Shigatoxine

STEC: Shiga-toxin producing E. coli

ST : Thermostables

SHU : Syndrome hémolytique et urémique

Tir : protéines d'adhésions

TDA : Tryptophane désaminase

µm : Micromètre

URE : Uréase

UPEC : Escherichia coli uropathogènes

VT : Verotoxine=vérocytotoxine

VP: Réaction de Voges Proskauer

Introduction

Escherichia coli est un bacille Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. L'espèce *Escherichia coli* est un outil très efficace dans les laboratoires, mais elle peut être aussi un redoutable pathogène pouvant provoquer des maladies sévères, non seulement au niveau du tractus intestinal mais aussi dans d'autres systèmes comme le système urinaire, nerveux ou sanguin (infections extra intestinales). (Moulakia H., 2015)

Les principaux pathotypes intestinaux, décrits en fonction des signes cliniques engendrés et des facteurs de pathogénicité exprimés, sont : *Escherichia. coli* entérotoxigènes (ETEC), *Escherichia. coli* entérotoxigènes (EPEC), *Escherichia. coli* entéroaggrégatifs (EAggEC), *Escherichia. coli* entérohémorragiques (EHEC) et *Escherichia. coli* entéroinvasifs (EIEC) (Moulakia H., 2015)

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses. L'émergence de cette résistance est un phénomène naturel, accéléré par le mauvais usage des antibiotiques chez l'homme et l'animal.

A partir des années 1950, de nombreux antibiotiques ont été découverts ou synthétisés et pour chaque nouvelle classe développée, nous avons assisté par la suite à l'émergence de nouveaux mécanismes de résistance, entraînant la diffusion de bactéries pathogènes de plus en plus difficiles à traiter.

La résistance des bactéries aux antibiotiques est une urgence de santé publique, Elle nous impose de réduire de façon massive nos prescriptions d'antibiotiques, de mettre en place les outils de surveillance permettant de suivre les évolutions de ces résistances afin d'adapter au plus vite nos stratégies diagnostiques et thérapeutiques. (Abdani.S, 2016)

A cause d'augmentation de l'apparition de différentes souches de bactéries résistantes aux antibiotiques surtout pour les entérobactéries, et étant donné que les bovins sont les réservoirs de souches d'*E.coli* pathogènes responsables de nombreuses maladies soit animales ou humaines.

L'objectif de notre étude consiste à mettre en évidence l'antibiorésistance des souches d'*E.coli* après avoir été isolées à partir des matières fécales des veaux moins de 6 mois.

Chapitre I : Généralités sur les entérobactéries

Les entérobactéries constituent une famille bactérienne hétérogène, composée d'une vingtaine de genres et de plusieurs dizaines d'espèces. Celles-ci sont souvent opportunistes et responsables d'infection nosocomiales.

Leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, leur rapidité de multiplication et leur fréquente résistance aux antibiotiques expliquent le fait qu'elles soient les bactéries les plus impliquées en pathologie infectieuse humaine surtout en milieu hospitalier. Leur distribution dans la nature est néanmoins plus large, puisqu'on les retrouve notamment chez les végétaux et dans l'environnement (sol et eau). (Benabdallah-Khoudja A., 2016)

I.1. Définition et caractéristiques générales

Dans la famille des *Enterobacteriaceae* sont groupés les bacilles à Gram négatif de dimension moyenne (coccobacille) qui sont : soit mobiles avec une ciliature péritriche, soit immobiles ; non sporulés ; aérobies et anaérobies facultatifs (capables de pousser en présence ou en absence de dioxygène) ; qui cultivent sur des milieux ordinaires à base d'extrait de viande ; qui fermentent le glucose avec ou sans production de gaz ; qui possèdent une nitrate-réductase (réduction du nitrate en nitrite) à l'exception de certaines souches d'*Erwinia* et de très rares mutants ; leurs cultures donnent toujours une réaction négative des oxydases. Enfin les entérobactéries possèdent une catalase à l'exception des *Shigella dysenteriae* du sérotype 1 (LE MINOR. L.)

I.2. Caractères bactériologiques

I.2.1. Caractères morphologiques

Les bactéries de cette famille sont des bacilles à Gram négatif, de 2 à 3 µm de longueur et de 0.6 µm de largeur (Reynaud A., 2003). Non sporulés, quelques fois capsulés, la plupart de ces espèces sont mobiles grâce à une ciliature péritriche (Euzéby, 2005). Cependant, certaines

d'entre elles, comme celles du genre *Klebsiella*, celles du genre *Shigella* et *Yersinia pestis*, sont immobiles. Les espèces mobiles présentent des flagelles de 15 à 20 µm de longueur et de 20nm de diamètre.

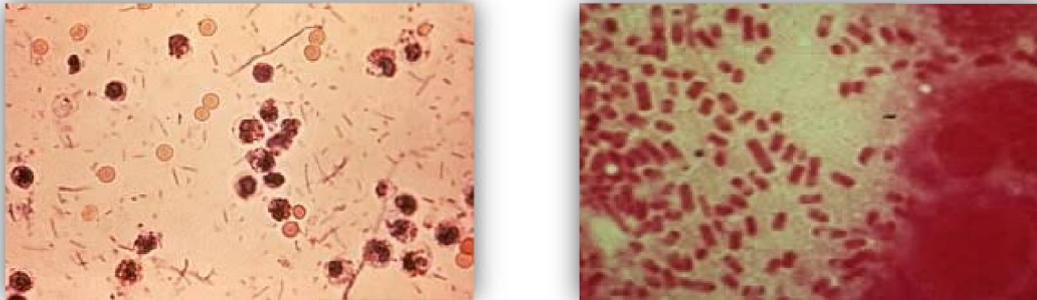


Figure 1: Observation microscopiques des entérobactéries
(Nougayréde)

I.2.2. Caractères cultureux

Les *Enterobacteriaceae* sont des aéro-anaérobies facultatifs qui se développent facilement sur les milieux ordinaires.

La température optimale de croissance est de 37°C pendant 24 heures mais la culture est possible entre 20 et 40°C. Ce sont des germes mésophiles et neutrophiles (pH optimum voisin de 5.5-8).

Le temps de division moyen des entérobactéries varie de 20 à 40 minutes.

On distingue trois types de colonies :

- S (smooth) : colonies rondes, lisses, blanches et translucides.
- R (Rough) : correspond à des vieilles cultures ou à des souches mutantes, les colonies sont sèches et irisées.
- M (Muqueuse) : les colonies sont plus grosses à aspect velouté. Certaines bactéries ont toujours cet aspect (ex : *Klebsiella*) ; pour d'autres types correspond à une forme muqueuses. (KHALED.H, 2017).

I.2.3.Caractères biochimiques

Le diagnostic de genre et d'espèce repose sur l'étude des caractères biochimiques, après que le diagnostic de famille ait été établi avec certitude. Les critères d'identification sont essentiellement "biochimiques" et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole, dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres (glucose, lactose, saccharose etc..), la capacité d'utiliser le citrate, la présence d'enzymes (décarboxylases, désaminases), la production d'hydrogène sulfuré ou la formation de gaz. (Benabdallah-Khoudja A., 2016)

Tableau 1: les critères d'identification des genres les plus fréquemment rencontrés des entérobactéries (Benabdallah-Khoudja A., 2016).

	Escherichia	Citrobacter	Enterobacter	Klebsiella	Serratia	Salmonella	Shigella	Proteus	Providencia	Yersinia
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP (Acetoïne)	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mobilité	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+
Urée	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
PDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H2S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

(*) : à 20°C seulement

(+) : Résultat positif

(-) : Résultat négatif

Chapitre II : Généralités sur *Escherichia coli*

II.1. Historique

Escherichia coli fut initialement isolée et décrite par le pédiatre allemand Théodore ESCHERICH, en 1885. Celui-ci démontra son existence comme hôte normal de l'intestin de l'enfant et pour marquer à la fois ce tropisme et la fréquence de son isolement, l'appela *Bacterium coli commune*, ce que l'on peut traduire par « bactérie commune du colon ». (Avril. J-L.).

C'est en 1919 que CASTELLANI et CHALMERS lui donnent son nom définitif en hommage à ESCHERICH. (Grimont, 1987).

Escherichia est ensuite devenu le genre-type de la famille des *Enterobacteriaceae* et *E. coli* l'espèce type de ce genre. Depuis, elle devient l'espèce la plus étudiée par les biologistes pour des travaux de physiologie et de génétique. (Avril. J-L.).

II.2. Présentation d'*Escherichia coli*

Escherichia coli est un type de coliforme fécal faisant partie des bactéries trouvées dans les intestins d'humains et d'animaux à sang chaud. La plupart des *Escherichia coli* sont inoffensifs et ont une fonction utile dans le corps en arrêtant la croissance des espèces bactériennes nuisibles et en synthétisant des vitamines nécessaires (vitamines K), qui aident à la coagulation sanguine. Cependant, elles peuvent être des pathogènes opportunistes, tandis que d'autres peuvent causer la maladie gastro-intestinale chez des individus sains quand elles sont ingérées. *Escherichia coli* est présente dans le gros intestin, donc elle est aussi présente dans la matière fécale des humains et des animaux. Si la contamination récente de sources d'eau avec des vidanges ou des déchets animaux a lieu, *Escherichia coli* sera présente (Moulakia H., 2015).

II.3. Classification

Tableau 2: Classification des *Escherichia coli* (Moulakia H., 2015)

Domaine	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Famille	<i>Enterobactériaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

II.4. Habitat

E. coli sont des hôtes normaux du tube digestif, de la partie distale de l'iléon et du colon de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud qu'ils colonisent dès les premières heures après la naissance. On peut la retrouver également au niveau des muqueuses. Ils constituent l'espèce dominante de la flore aérobie (1000 fois moins importante que la flore anaérobie). *E. coli* n'existent pas normalement dans l'eau et le sol. Leur présence est un indicateur de contamination fécale. (LE MINOR. L.)

II.5. Caractères bactériologiques

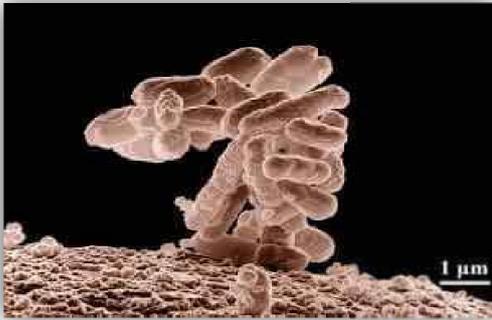
II.5.1. Caractères morphologiques et culturels

E. coli est un coccobacille, Gram négatif, dont la taille varie entre 2 à 6 µm de longueur et entre 1 à 1,5 µm de largeur. Ses extrémités sont arrondies. Il est présent généralement isolé ; groupé par 2 ou plus rarement en amas. Dans les cultures âgées, la bactérie peut apparaître sous forme de filaments de 6 à 8 µm de longueur.

E. coli est mobile grâce à une ciliature péritriche, non sporulée, parfois capsulée, à coloration souvent bipolaire. (KHALED.H, 2017)

Elles se développent en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux

lactoses, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques. (Benabdallah-Khoudja A., 2016)



Escherichia coli Grossissement x1000



Escherichia coli Grossissement x1500

Figure 2: *Escherichia coli* sous microscope électronique (Moulakia H., 2015)

II.5.2. Caractères biochimiques

Outre que les caractères biochimiques généraux de la famille des entérobactéries, *E. coli* se caractérise par :

- Fermentation du glucose avec production de gaz.
- Fermentation du lactose et du saccharose.
- Les majorités des souches d'*E. coli* fermentent le sorbitol à l'exception de la souche O157 H7.
- Production de l'indole.
- Possèdent différentes enzymes telles que la lysine décarboxylase (LDC), l'ornithine décarboxylase (ODC) et la glucuronidase (Glu).

Cependant les *E. coli* se caractérisent également par :

- Réaction négative au citrate de Simmons.
- Réaction négative à l'uréase.
- Réaction négative au test voges proskauer (VP).
- Réaction positive au test rouge de méthyle (RM).
- Réaction négative au test tryptophane désaminase (TDA).
- Réaction négative au test arginine dihydrolase (ADH).
- Non production de gaz d'hydrogène sulfuré (H₂S).

II.6.Caractères antigéniques

Sans compter l'antigène commun de toutes les entérobactéries, l'antigène de kunin (ECA), *E. coli* se caractérise par trois structures antigéniques différentes :

II.6.1.Antigène somatique O

Cet antigène est localisé au niveau de la paroi bactérienne de nature lipopolysaccharidique (LPS), il est thermostable, sensible au formol mais non à l'alcool. Il est en fait l'endotoxine bactérienne. A cet antigène O correspond une agglutination O. il existe environ 180 antigènes O différents, qui sont décelables par agglutination face à un antisérum de référence. En fonction ces derniers il est possible de classer sérologiquement les *E. coli*. (Barka.M, 2012)

II.6.2.Antigène flagellaire H

De nature protéique, thermolabile, inconstant, détruit par l'alcool mais résistant au formol, dont on connaît plus de 50 spécificités. Il existe que chez les bactéries mobiles, donc pourvu de flagelles. A cet antigène H correspond une agglutination H faite d'agglutinats floconneux, lâches et facilement dissocié par agitation (Barka.M, 2012). Cependant cet antigène ne sert pas à l'identification des souches pathogènes des *E. coli* mais présente un grand intérêt de point de vue épidémiologique, il est toujours monophasique à l'inverse de l'antigène H de *salmonella* (KHALED.H, 2017).

II.6.3.Antigène de surface ou d'enveloppe K

De nature polysaccharidique, il entoure les antigènes O et donc il inhibe l'agglutination O lorsqu'il est présent et se caractérise par deux types de structures :

La première, capsulaire lorsqu'il constitue une capsule visible au microscope.

La seconde, d'enveloppe quand il n'est pas visible au microscope masque les antigènes somatiques, si bien qu'il inhibe l'agglutinabilité O des bactéries par les sérums de diagnostic des *Escherichia coli* préparés sur lapin. (Barka.M, 2012)

Il existe plus de 100 spécificités. On distingue 3 types de l'antigène K en fonction de leurs propriétés

- Type L : thermolabile, il perd son agglutinabilité après chauffage à 100°C pendant une heure.
- Type B : de thermolabilité intermédiaire.
- Type A : thermostable, n'est détruit qu'après un chauffage à 120°C pendant 2 heures et 30 minutes. (KHALED.H, 2017)

II.7.Facteurs de virulence

La définition des facteurs de virulence et la compréhension des mécanismes impliqués dans le pouvoir pathogène des souches d'*Escherichia coli* sont des préalables indispensables à l'évaluation du risque pour la santé publique lié à l'existence de ces pathogènes.

-**La capsule** : qui s'oppose à la phagocytose.

- **LPS (endotoxine)** : libérée après destruction ou division bactérienne, l'endotoxine possède une action leucopéniante, pyrogène et toxique.

- **Des systèmes de captation du fer : Les sidérophores** : notamment codé par l'îlot de pathogénécité fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication, au détriment de la transferrine.

- **Des toxines** :

- ❖ **L'endotoxine** commune aux entérobactéries
- ❖ **Les entérotoxines ST** (thermostables et non immunogène) et **LT** (thermolabiles et immunogène). Ce sont des toxines cytotoxiques qui agissent sur le contrôle entérocytaire de la sécrétion hydro-électrolytique, la toxine LT est proche de la toxine cholérique.
- ❖ **Les cytotoxines SLT1 et SLT2 (Shiga-like toxine)**. Ce sont des toxines qui altèrent l'intégrité des entérocytes. On les appelle encore des **verotoxine (VT)** à cause de leur effet toxique sur les cellules Vero en culture.
- ❖ **Sat et Vat** : Sat (secreted auto-transporter toxin) et Vat (vacuolating auto-transporter toxin) sont des toxines de type V, de la famille des auto-transporteurs. Elles vont produire une vacuolisation et un engorgement cellulaire.

Vat toxine entre dans la pathogénèse d'une infection extra-intestinale d'*E. Coli* n'a pas encore été bien identifié.

Sat toxine provoque un dommage sévère dans les reins, perte de la membrane glomérulaire, perte de l'épithélium des tubules, et une vacuolisation du tissu, mais sans avoir un rôle déterminé dans la colonisation de la bactérie.

❖ **Toxine nécrosante (cytotoxic necrotizing factor/CNF)**

❖ **Hémolysines alpha et bêta**

-Des protéases, telles que la sérine protéase, la catalase peroxydase, la métallo-protéase.

Des systèmes de résistance à l'acidité gastrique et des uréase

- **Les adhésines** : Les adhésines confèrent aux souches d'E. coli la propriété de se fixer aux cellules épithéliales, de nature protéique, elles sont portées le plus souvent par des pili communs. L'adhérence constitue une étape essentielle de la pathogénèse due aux bactéries entériques. Les principaux sont les facteurs impliqués dans le développement des lésions d'attachement et d'effacement (A/E) des entérocytes, qui est responsable de diarrhées, et se caractérisent par un effacement des microvillosités des cellules de l'épithélium intestinal dans la zone de contact entre la bactérie et la cellule cible. (Moulakia H., 2015)

-**Les enzymes inactivant les antibiotiques** : Codés par des plasmides, qui confèrent un mécanisme de résistance aux bactéries par des phénomènes de conjugaison assuré par les enzymes inactivant les aminosides. (KHALED.H, 2017)

II.8.Pouvoir pathogène

Escherichia coli peut devenir pathogène lors de l'affaiblissement des défenses de l'hôte et/ou suite à l'acquisition d'attributs de virulence. Les souches d'*Escherichia coli* pathogènes sont responsables d'atteintes et d'infections intestinales ou extra-intestinales et sont classées en pathotypes selon les manifestations cliniques engendrées, les facteurs de virulence hébergés et les interactions cellulaires. Il existe deux catégories de pathovar, en se basant sur leur pathogénécité :

- *Escherichia coli* à l'origine de pathologies extra- intestinales

- *Escherichia coli* à l'origine de pathologies intestinales (Moulakia H., 2015)

II.8.1. *Escherichia coli* à l'origine des infections extra-intestinales (ExPEC)

Ils peuvent impliquer chez leurs hôtes, lors d'infections du tractus urinaire (ITU) des méningites néonatales (NMEC) ; ou des septicémies. Ils posent problème autant en médecine humaine, notamment à cause des multiples résistances acquises portées le plus souvent par des plasmides. Les ExPEC forment un groupe hétérogène d'*Escherichia coli*, pouvant se disséminer partout dans l'organisme. Parmi ces facteurs de virulence comme les adhésines jouent un rôle central, permettant la colonisation de milieux extra-digestifs, l'internalisation des souches et l'échappement aux réactions immunitaires de leurs hôtes. (Moulakia H., 2015)

❖ *Escherichia coli* uropathogènes, UPEC

Ils sont responsables de la majorité (90%) des infections survenant sur un arbre urinaire normal : cystites, pyélonéphrites. Leur pouvoir pathogène est caractérisé par une adhésion aux cellules uro-épithéliales grâce à plusieurs types d'adhésines, et à d'autres facteurs comme l'hémolysine alpha et les sidérophores. (Moulakia H., 2015)

❖ Autres *Escherichia coli* pathogènes non responsables de diarrhée

Les *Escherichia coli* sont responsables de 50% des septicémies dues à des bactéries à Gram négatif et de 4% des méningites bactériennes touchant principalement les nouveaux nés et les patients de neurochirurgie

Les souches possédant l'antigène K1 sont en cause dans 80% des méningites néonatales et 40% des septicémies à *Escherichia coli*. L'antigène K1, homopolymère d'acide sialique, est considéré comme le facteur de pathogénicité le plus important parmi les *Escherichia coli* causant les méningites néonatales. Il a une activité anti phagocytaire importante et présente une communauté antigénique avec le polysaccharide B du méningocoque. Les sidérophores jouent un rôle dans la septicémie.

Les *Escherichia coli* sont également isolés dans des péritonites, cholécystites, prostatites, infections puerpérales, infections nosocomiales, de plaies chirurgicales, bactériémies... (Moulakia H., 2015)

II.8.2. *Escherichia coli* à l'origine des infections intestinales

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

Les principaux pathotypes ou pathovar intestinaux sont décrits en fonction des signes cliniques (Moulakia H., 2015)

II.8.2.1. *Escherichia coli* entérotoxigènes (ETEC)

Responsables des diarrhées du voyageur, fréquents dans les pays chauds et humides et seulement rencontrés en France lors de cas importés par des voyageurs venant de ces pays d'où le nom de « turista » donné à ces diarrhées. Ils sont liés à la présence des deux types d'entérotoxines, les unes thermostables (ST), les autres thermolabiles (LT), et d'adhésines permettant aux bactéries d'adhérer aux cellules épithéliales de la muqueuse de l'intestin grêle et de s'y multiplier. Les gènes de ces deux types de facteurs de pathogénicité ont un support plasmidique. (Moulakia H., 2015)

II.8.2.2. *Escherichia coli* entéropathogènes (EPEC)

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

Cette infection par les *Escherichia coli* entéropathogènes, (EPEC) se fait selon les étapes suivantes

-Etape1: Dans des conditions environnementales propices, les lésions (A/E) d'attachement/effacement expriment le groupe qui permet l'adhésion : les protéines d'adhésions (Tir), associés à la surface d'*Escherichia coli* EspA.

-Etape 2 : L'adhésion des protéines à l'épithélium se fait par système de sécrétion qui injecte le récepteur membranaire et d'autres effecteurs dans le cytoplasme de la cellule hôte. Il en

abouté l'activation des signaux cellulaires qui entraînent l'altération du cytosquelette, avec dépolymérisation de l'actine et perte des microvillosités.

-Etape 3 : entraînant la lésion d'attachement / effacement dans la bactérie par la membrane cellulaire. Donc l'actine s'accumule en dessous du site d'adhérence des bactéries.

-Etape 4 : Il y a une accumulation massive d'éléments du cytosquelette, formant un piédestal caractéristique. Les effecteurs injectés par le système de translocation perturbent les processus cellulaires, aboutissant à la perte de l'intégrité des jonctions serrées, et des fonctions mitochondriales ; il en résulte des pertes électrolytiques, parfois suivies de la mort de la cellule. (Moulakia H., 2015)

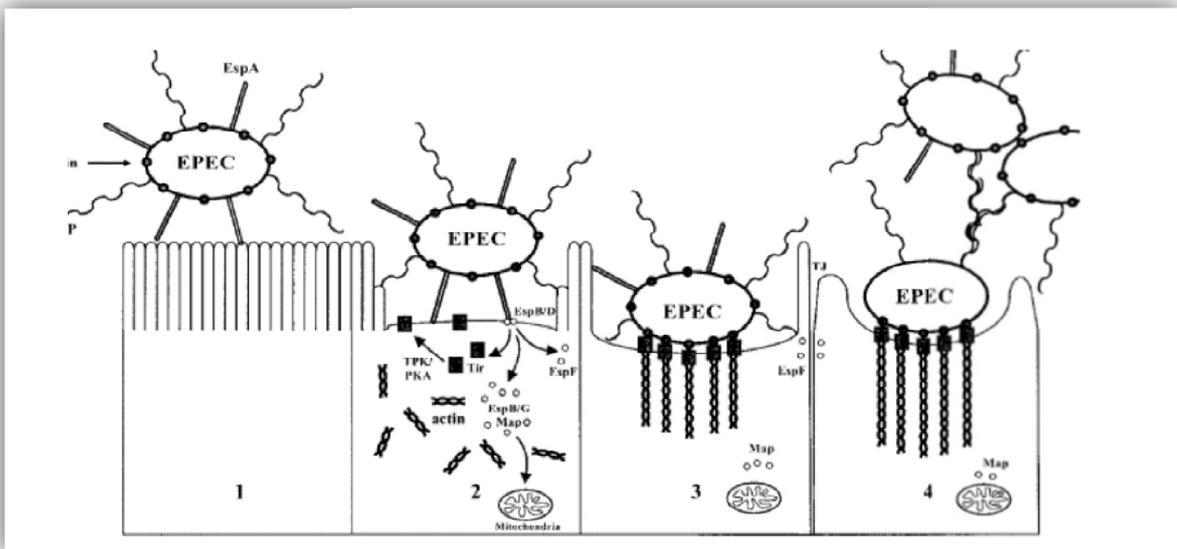


Figure 3: représentation schématique des étapes d'infection d'Escherichia coli entéropathogène EPEC (Moulakia H., 2015)

Etape 1 : l'adhésion.

Etape 2 : l'injection des récepteurs et les effecteurs.

Etape 3 : pénétration des lésions.

Etape 4 : perturbation du processus cellulaire.

II.8.2.3. *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC)

Les ECEH sont responsables de colites hémorragiques. Le principal réservoir de ces bactéries est le tube digestif des bovins ; la contamination humaine se fait par l'intermédiaire d'aliments, principalement la viande de bœuf hachée et le lait cru.

Les ECEH produisent une verotoxine ou (Shiga-toxine) qui peut entraîner un syndrome hémolytique et urémique (SHU). Les intoxications à ECEH se sont déclarées suite à l'ingestion de viande contaminée et insuffisamment cuite (hamburger). Une intoxication a eu lieu en France en 2005. Les cytotoxines (verotoxine) sont à l'origine de la destruction des cellules intestinales. Les symptômes peuvent aller de diarrhée simple à une diarrhée sanglante et abondante. Les manifestations sont plus graves chez les enfants de moins de 8 ans et chez les personnes de plus de 65 ans. Le SHU se manifeste entre autres par une anémie hémolytique, une thrombopénie (PTT) (purpura thrombotique et thrombocytopénique) et une insuffisance rénale aiguë, induisent des colites hémorragiques, ces affections peuvent être mortelles (Moulakia H., 2015)

II.8.2.4. *Escherichia coli* entéro-invasives (EIEC)

L'origine de syndromes dysentériques intermédiaires entre les *Escherichia coli* et les *Shigella* dont ils possèdent le pouvoir pathogène, ils provoquent des ulcérations de la muqueuse du gros intestin, d'où la présence de pus et parfois de sang dans les selles et sont caractérisés par le caractère invasif des cellules due à l'acquisition d'un plasmide.

La capacité de la bactérie à envahir les cellules épithéliales peut être démontrée par le test de Sérény in vivo, en provoquant une Kératoconjonctivite purulente à la suite du dépôt de la bactérie sur la cornée du cobaye.

La pathogénicité des EIEC repose à la fois sur leur la puissance invasive et sur la production des toxines.

Les mécanismes de pathogénicité chez les EIEC sont :

- Pénétration dans une cellule épithéliale.
- Lyse de la vacuole d'endocytose, multiplication intracellulaire.
- Mouvements directionnels à travers le cytoplasme
- Extension dans les cellules adjacentes.

Si l'infection est sévère, elle induit une réaction inflammatoire qui se manifeste par des ulcérations. Les gènes impliqués dans l'invasion d'*Escherichia coli* sont portés par le plasmide Pinv. (Moulakia H., 2015)

II.8.2.5. *Escherichia coli* entéro-agrégatives EaggEC (AAEC)

Ce pathotype, reconnu depuis quelques années, est associé plus particulièrement à des diarrhées aqueuses persistantes chez les jeunes enfants dans les pays en développement ou développés mais aussi à des diarrhées sanglantes occasionnelles.

Les souches EaggEC se caractérisent par un type d'adhésion agrégative en « briques empilées » à l'origine de nécroses au pôle apical des villosités avec œdème inflammatoire et hémorragique de muqueuse. Elle élabore une entérotoxine thermostable et une thermolabile. Rappelons que les principaux facteurs de virulence des EaggEC sont portés par un plasmide de 65MDa, le plasmide AA (Moulakia H., 2015)

II.8.2.6. *Escherichia coli* à adhésion diffuse ou (DAEC)

Ils ont été récemment associés à des diarrhées aiguës et persistantes chez les nourrissons et les jeunes enfants dans les pays développés ou en développement. Les diarrhées peuvent être aqueuses et contenir du mucus. La durée moyenne est de 8 jours. Les DAEC adhèrent seulement aux cellules HEP-2 et paraissent uniformément dispersés sur toute la surface des cellules épithéliales en un profil diffus. Elles possèdent des propriétés d'adhésion particulières aux structures cellulaires : formation d'agrégats. (Moulakia H., 2015)

Les *Escherichia coli* à l'origine de pathologies intestinales ont en commun de se multiplier dans l'intestin de leurs hôtes. Ils se retrouveront donc dans les fèces et par la suite dans les effluents qui drainent ces fèces, à savoir :

a- en élevage :

- les litières, les fumiers et les lisiers

- les eaux de ruissellement des locaux d'élevage, les eaux de ruissellement des pâtures, les eaux de lavage.

b- à l'abattoir :

- les litières, fumiers et lisiers des parcs de stockage des locaux ante-mortem

- les matières stercoraires, définies comme le contenu du tube digestif des animaux abattus et toutes les eaux de lavage des viscères digestifs

- les eaux de lavage.

c- pour les effluents d'origine humaine :

- les eaux usées rejetées au tout-à-l'égout en vue d'être traitées en station d'épuration

- les eaux des fosses septiques initialement étanches

- les eaux souillées qui s'écoulent librement (rare dans les pays développés, mais monnaie courante dans les pays en voie de développement) (Moulakia H., 2015)

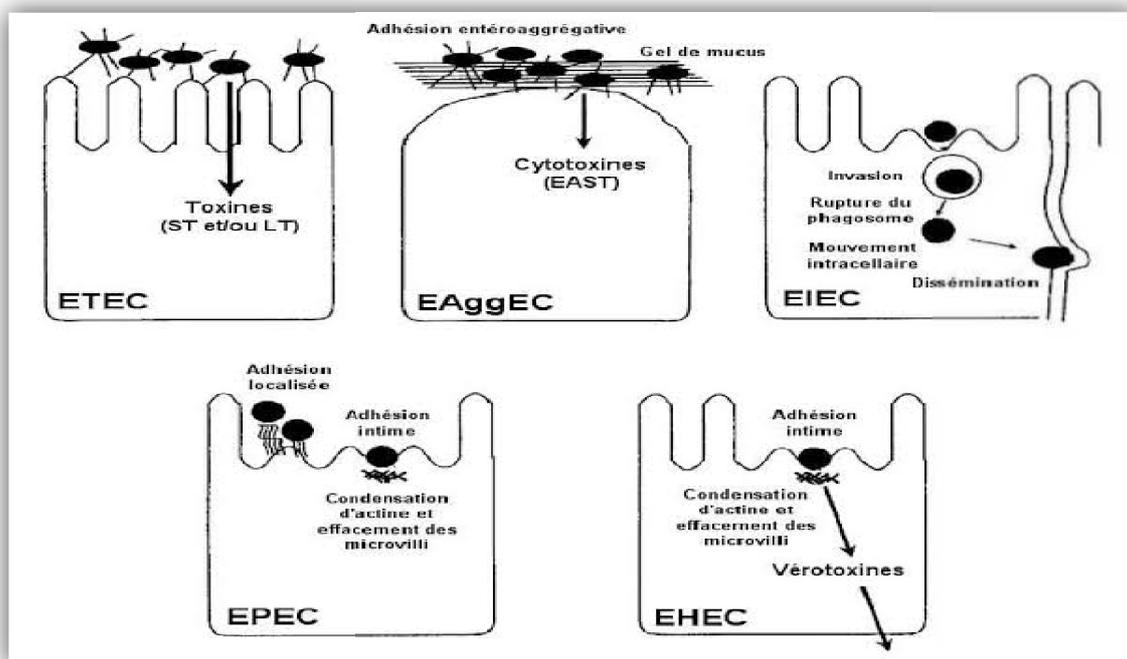


Figure 4: Pathovar d'*Escherichia coli* (Nougayrède)

Chapitre III : Résistance bactérienne aux antibiotiques

III.1.Généralités sur les antibiotiques

III.1.1.Définition

On peut retenir deux définitions parmi d'autres :

Le terme « antibiotiques » désignait tout composé chimique naturel produit par des micro-organismes qui ont la propriété d'inhiber la croissance et même de détruire d'autres micro-organismes à faibles concentrations. (Williams R.H., 1980)

Actuellement, on appelle « antibiotique » toute substance ayant la propriété de tuer les bactéries pathogènes ou d'empêcher leur prolifération, elle est sans effet sur les infections parasitaires et virales, mais sur les mycoses. Elle peut être d'origine synthétique, semi synthétique ou naturelle, produite par des bactéries ou des champignon agissant spécifiquement au niveau de certaines structures ou dans diverses réactions de synthèse. (Kezzal.K, 1993)

III.1.2. Classification et mode d'action des antibiotiques

Les différents antibiotiques exploites en médecine thérapeutique peuvent être classés par famille chimique et par leurs modes d'action. Les cibles décrites jusqu'à présent sont la paroi, la membrane, l'acide nucléique et les ribosomes des micro-organismes. (Abdani.S, 2016)

❖ Les antibiotiques qui ciblent la paroi bactérienne

La paroi bactérienne est une structure rigide composée de peptidoglycane.

Il s'agit d'un réseau tridimensionnel d'acides aminés et de chaînes polysaccharidiques, constituées de N-acétylglucosamine et d'acide Nacétylmuramique. Trois modes d'action sont utilisés par les antibiotiques présentés par le Tableau n° 3. (Abdani.S, 2016)

Tableau 3: Classification des antibiotiques qui ciblent la paroi bactérienne

Mode d'action	Famille
Inhibiteurs de la transpeptidase	Beta-lactamines
Inhibiteurs de la polymérisation du Peptidoglycane	Glycopeptides
Inhibiteurs de la formation d'acide N-acétyl muramique	Fosfomycine

❖ **Les antibiotiques qui ciblent la membrane plasmique**

Certains antibiotiques ont pour cible la membrane plasmique bactérienne avec une action bactéricide. Ces antibiotiques de type *polypeptidique* présentent une toxicité lors de leur administration. Ce sont des molécules naturelles produites par des bactéries du genre *Bacillus*. On peut citer pour ce genre d'antibiotiques les *polymexines B* et *E*. (Abdani.S, 2016)

❖ **Les antibiotiques qui ciblent les ribosomes**

Les ribosomes sont des organites présents dans les cellules eucaryotes et procaryotes (Cellule bactérienne). Leur structure se compose de protéines et d'ARN. Ils synthétisent les protéines en décodant l'information contenue dans l'ARN messager. Ces organites comportent une petite sous-unité (qui se charge de lire l'information portée par l'ARN messager) et d'une grande sous-unité qui se charge d'intégrer les acides aminés.

La plupart des antibiotiques qui ont pour cible les ribosomes interfèrent avec la synthèse protéique en induisant des erreurs de synthèse ou en inhibant cette synthèse.

La cellule bactérienne est ainsi dans une incapacité de synthétiser des protéines qui lui sont vitales.

Les familles des antibiotiques concernées ainsi que leur mode d'actions sont présentées par le Tableau n°4 (Abdani.S, 2016)

Tableau 4: Classification des antibiotiques qui ont pour cible les ribosomes

Mode d'action	Famille
Inducteurs d'erreurs de décodage	Aminosides
inhibition de l'élongation par le site P	Macrolides Lincosamide Synergistines
Inhibition de l'activité de la peptidyl transférase	Phénicoles
Inhibition de la fixation de l'ARN de transfert	Cyclines

❖ **Les antibiotiques qui ciblent l'ARN**

Pour ce mode d'action, on dénombre la famille des *rifamycines* et la *rifabutine* qui sont des molécules hémi synthétisées à partir de la rifamycine B.

En se liant à l'ARN polymérase, ces antibiotiques bloquent la formation de la chaîne d'ARN messager et par conséquent on assiste à un arrêt de la synthèse protéique. Les rifamycines sont des antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram positif, sur *Mycobacterium*, quelques bactéries à Gram négatif et surtout les *Neisseria meningitidis* (méningocoque). (Abdani.S, 2016)

❖ **Les antibiotiques qui ciblent l'ADN**

L'ADN est la cible des **quinolones**, qui forment une large famille d'antibiotiques de synthèse et dérivent de l'acide nalidixique. Ils sont caractérisés par un large spectre d'activité, une bonne biodisponibilité orale, et une bonne diffusibilité dans les tissus. (Abdani.S, 2016)

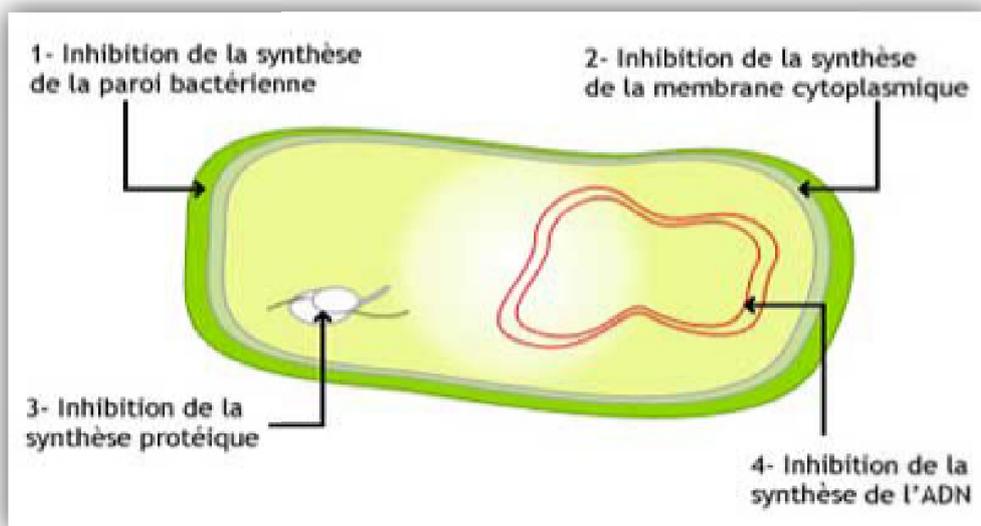


Figure 5: Modes de fonctionnement des antibiotiques (Mohammedi. D.)

III.1.3. Conditions d'action des antibiotiques

- Posséder une cible bactérienne spécifique
- Demeurer sous forme active
- Accéder à la cible
- Interagir efficacement avec la cible, en l'inactivant

Si une de ces conditions absentes : souche résistante. (Abdani.S, 2016)

III.2. Résistance bactérienne aux antibiotiques

III.2.1. Définition de la résistance bactérienne

Il existe plusieurs approches et définitions de la résistance, l'organisation mondiale de la santé a défini la résistance bactérienne aux antibiotiques dès 1961 de deux façons différentes :

❖ Définition thérapeutique

Une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotiques qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration atteignable in vivo.

❖ Définition épidémiologiques

Une souche est dite « résistante » lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotiques notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. (Abdani.S, 2016)

Ces des définitions ont été complétés par deux autres définitions.

❖ Définition génétique

Une bactérie est dite résistante quand elle héberge des gènes codant pour cette résistance, ce qui se traduit comme un changement dans le code génétique du micro-organisme, codant ainsi un gène altéré. (Abdani.S, 2016)

❖ Définition clinique

Une bactérie est dite résistante quand elle échappe à l'action de l'antibiotique supposé actif, prescrit aux malades c'est ce qui se manifeste par un échec clinique relatif ou absolu de l'antibiothérapie. Dans la majorité des infections, un échec clinique se traduit par l'absence d'amélioration après environs 72 heures de traitement et la prescription d'un deuxième antibiotique. (Abdani.S, 2016)

III.2.2.Types de résistance bactérienne

III.2.2.1.Résistance naturelle

La résistance des bactéries aux antibiotiques peut être naturelle ou intrinsèque. La résistance intrinsèque est l'aptitude innée, universellement présente dans le génome d'une espèce bactérienne, de résister à l'action d'un antibiotique particulier.

La résistance naturelle est encore appelée insensibilité car elle existe chez des bactéries qui n'ont jamais été sensibles à un antibiotique donné (Um, 2016)

Leur mécanisme sur le génome bactérien est constant dans un taxon et est généralement chromosomique. Elle correspond à la résistance de toutes les souches d'une espèce bactérienne à un antibiotique. Elle est due soit à une absence de cible pour l'antibiotique soit à une imperméabilité de la paroi à cet antibiotique. (Benabdallah-Khoudja A., 2016) C'est ainsi que, les bacilles à gram négatif sont naturellement résistants aux antibiotiques hydrophobes car ces molécules ont des difficultés à passer la membrane externe de leur

paroi. Les mycoplasmes, bactéries dépourvues de paroi présentent une résistance naturelle aux bêta-lactamases, puisque le mode d'action de cette famille d'antibiotique consiste à inhiber la synthèse du peptidoglycane. (Abdani.S, 2016)

La société française de microbiologie (SFM) définit la résistance naturelle comme la caractéristique d'une espèce bactérienne qui se traduit par des concentrations minimales inhibitrices (CMI) supérieures à la concentration critique supérieure des tests de sensibilités pour l'antibiotique concerné. (Barka.M, 2012)

A ce titre, elle constitue un critère d'identification. La résistance naturelle détermine les phénotypes « sauvages » des espèces bactériennes vis-à-vis des antibiotiques. (Benabdallah-Khoudja A., 2016)

III.2.2.2. Résistance acquise

Le terme de résistance acquise est utilisé pour désigner des processus permettant à des bactéries appartenant à une espèce originalement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques.

La résistance résulte de l'emploi thérapeutique des antibiotiques et elle est déterminée par des modifications génétiques consistant à des mutations sur des gènes déjà présents sur la bactérie (résistance par mutation chromosomique), ou en l'acquisition de nouveaux gènes de résistance par transfert horizontal (résistance extra-chromosomique) (Benabdallah-Khoudja A., 2016)

III.2.3.Mécanismes de résistances aux antibiotiques

Bien que plusieurs mécanismes soient impliqués dans les résistances acquises de certaines espèces bactériennes à certains antibiotiques, les suivants sont communément décrits : (Benabdallah-Khoudja A., 2016)

❖ Diminution de la perméabilité

L'absence de perméabilité de la paroi est un phénomène de résistance naturelle chez certaines espèces mais peut survenir chez des espèces sensibles à la suite d'une mutation chromosomique. L'altération des purines suite à une mutation chromosomique diminue le

passage des molécules et réduit la sensibilité des bactéries à certains antibiotiques. (Benabdallah-Khoudja A., 2016)

❖ **Modification du site d'action**

Si la cible d'action d'antibiotiques a subi une altération par une mutation, l'antibiotique est incapable de se fixer ou se fixe mal à cette molécule modifiée. Par conséquent son action inhibitrice ou destructrice est limitée ou annulée.

Exemple : modification de PLP est l'un des mécanismes de résistance aux beta-lactamines. (Benabdallah-Khoudja A., 2016)

❖ **Inactivation de l'antibiotique par les enzymes bactériennes**

Elle consiste en la production d'une enzyme spécifique qui détruit ou modifie l'antibiotique en donnant des dérivés inactifs sur la bactérie. Le pouvoir antibiotique des bêta-lactamines, des aminosides et des chloramphénicol peut être inactivé par une enzyme comme bêta-lactamases, estérase. (Benabdallah-Khoudja A., 2016)

❖ **Substitution de la cible d'action des antibiotiques**

Ce système consiste en un développement d'une voie métabolique visant à remplacer la voie bloquée par l'antibiotique. Un des mécanismes avec le sulfamide et triméthoprime suppose qu'entre autre ce mode de résistance est lié à la synthèse d'une enzyme plasmidique insensible à l'action de l'antibiotique. (Benabdallah-Khoudja A., 2016)

Chapitre IV : Diagnostic, Traitement et prophylaxie de l'infection à Escherichia coli

IV.1.Diagnostic

Le diagnostic d'une infection à Escherichia coli est possible à partir d'un examen clinique mettant en évidence les symptômes de la maladie.

Pour confirmer la présence d'E.coli, il faut pratiquer des analyses telles qu'un examen bactériologique(ou ECBU en cas d'infection urinaire), une formulation sanguine complète, le calcul du taux d'électrolytes, d'urée et de créatine (pour évaluer une atteinte rénale). (Top Santé)

IV.2.Traitement

Certaines formes pathogènes d'E. Coli sont particulièrement dangereuses c'est pourquoi il est nécessaire de les traiter rapidement.

Un traitement antibiotique adapté à la bactérie suffirait à guérir l'infection en quelques jours, mais il risque de libérer dans le sang des toxines qui pourraient entraîner des pathologies plus grave encore.

Le traitement est donc essentiellement symptomatique et il doit s'accompagner d'une importante réhydratation. Il est néanmoins possible de mettre en place un traitement préventif, qui fait surtout appel aux mesures d'hygiènes générales notamment alimentaire et aux mesures d'hygiènes individuelles. (Top Santé)

IV.3.Prophylaxie

Observer de bonnes règles d'hygiènes personnelles

Se laver soigneusement les mains avec du savon et de l'eau après être allé aux toilettes ou avoir changer une couche, après avoir touché à des animaux ou avoir été en contact avec leurs fèces, après avoir manipuler de la viande ou de la volaille crue et avant de préparer ou de manger de la nourriture. (Moulakia H., 2015)

Prendre des précautions en matière de salubrité alimentaire

Laver les fruits et les légumes crus avant de manger. Faire cuire correctement toutes les viandes (viandes, volailles et fruits de mer). Eviter tout contact entre les aliments cuits et de la volaille ou tout autres viande crue. Ne consommer que des produits laitiers pasteurisés (lait, fromage, yaourt, crème glacée). (Moulakia H., 2015)

Boire de l'eau traitée adéquatement

Eviter d'avaler de l'eau provenant de sources d'eau destinées aux loisirs, comme les piscines et les cuves thermales. Ne pas boire d'eau de surface non traitée provenant de lacs ou de ruisseaux. Faire bouillir l'eau pendant une minute afin de tuer tous les pathogènes connus comme cryptosporidium et Escherichia coli. Procéder deux fois par année à une analyse de l'eau provenant de son puits privé afin de déceler la présence de bactéries. (Moulakia H., 2015)

I. Objectif de l'étude :

A cause d'augmentation de l'apparition de différentes souches de bactéries résistantes antibiotiques surtout pour les entérobactéries, et étant donné que les bovins sont les réservoirs de souches d'E. Coli pathogènes responsables de nombreuses maladies soient animales ou humaines.

L'objectif de notre étude consiste à mettre en évidence l'antibiorésistance chez des souches d'E. coli après avoir été isolées à partir des matières fécales des veaux moins de 6 mois

L'étude s'est déroulée Du mois de Février 2019 au mois de Juin 2019. Le travail pratique à été réalisé au sein du laboratoire de recherche au niveau de la faculté des sciences vétérinaires de l'université Saad Dahleb Blida.

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel

Le matériel utilisé durant notre étude se résume en :

II.1.1. Matériel non biologique

Le matériel non biologique est représenté par le matériel nécessaire pour un laboratoire de microbiologie (cf. annexe2)

II.1.2. Matériel biologique

Pour répondre à notre objectif nous avons réalisé les prélèvements selon les protocoles suivant :

❖ Elevage :

Les prélèvements des matières fécales sont effectués sur 50 veaux. Ces prélèvements sont issus de plusieurs élevages situés dans différentes région : Ighil-Ali, Tazmalt (Bejaïa), Azazga, Freha, Mekla, Ait- Oumalou (Tizi Ouzou), Misserghin (Oran).

❖ Prélèvements :

La récolte des prélèvements a été réalisée par nous même. Et pour cela la procédure a été la suivante ; à l'aide des gants d'examen rectal, nous avons stimulé le sphincter anal des veaux jusqu'à ce que les fèces commencent à être évacuées et ainsi nous les avons

directement récupérer dans un pot à prélèvement stérile dès leur sortie ou à la rigueur juste après émission lors de défécation naturelle.



Figure 6: Photo des prélèvements des matières fécales

Les prélèvements sont acheminés le plus rapidement dans une glacière isotherme à +4°C vers le laboratoire de recherche au niveau de la faculté des sciences vétérinaires de l'université Saad Dahleb BLIDA, dans un délai qui ne dépasse pas les 24h. Une fiche individuelle des renseignements recueillis de la visite établie à comporté numéro, date du prélèvement, l'âge, le sexe, la race et la région.

Tableau 5: Origine et nombre des échantillons des matières fécales au niveau des fermes de la wilaya de Bejaia, Tizi-Ouzou et Oran

Régions	Localités	Nombre d'échantillon
Oran	Misserghin	2
Bejaïa	Ighil-Ali	6
	Tazmalt	4
Tizi-Ouzou	Freha	28
	Azazga	1
	Ait-Oumalou	4
	Mekla	5
Total		50

II.2. Méthodes :

Pour rechercher les souches *d'E. coli* dans les matières fécales des veaux, nous avons adopté la méthode de routine.

II.2.1. Enrichissement :

Prélever environ 25 g de matière fécale, les mettre dans 250 ml de bouillon nutritif (exemple de BHIB), agiter et incuber à 37°C pendant 24 heures.

II.2.2. Isolement :

Les prélèvements sont ensemencés ensuite sur gélose MacConkey et incubés à une température de 37°C pendant 24 heures.

Ce milieu sélectif pour les entérobactéries permet de différencier entre les espèces qui fermentent le lactose comme les *E. coli* (colonies rosées) des colonies qui ne le font pas (colonies jaunes pâles)

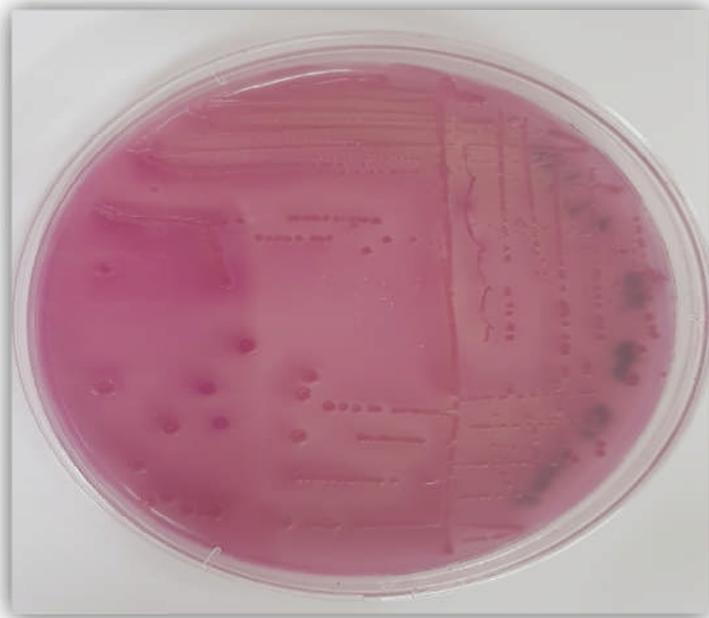


Figure 7: Photo de culture bactérienne sur gélose MacConkey

II.2.3.Lecture et purification :

▪ **Lecture :**

Sur milieu MacConkey, les colonies lactose (+) donnent des colonies rouges briques entourées d'un halo opaque de précipitation des sels biliaries. Les colonies lactoses (-) sont incolores.

▪ **Purification des souches :**

Les colonies suspectes seront repiquées sur milieu gélose nutritive. Incuber à 37°C pendant 24heures.

II.2.4. Identification :

L'identification bactérienne est réalisée après une purification des colonies, en utilisant : coloration de gram, la galerie Api 20 E et enfin l'antibiogramme.

II.2.4.1. Identification morphologique : coloration de gram.

- Prélever un fragment de la culture sur GN, l'étaler sur une lame à l'aide de l'eau physiologique puis le fixer à la chaleur,
- Déposer quelques gouttes de violet de gentiane. Laisser agir 60 secondes.
- Rincer à l'eau
- Mordançage au lugol, laissé agir 30 secondes,
- Rincer à l'eau
- Décoloration à l'alcool, et rincer après 3 seconde
- Recoloration à la fuchsine. Laisser agir 60 secondes,
- Laver
- Sécher.

Observation :

Observation au microscope optique avec une goutte d'huile à immersion(Gx100).

Une coloration rose traduit la présence de germes Gram négatif.

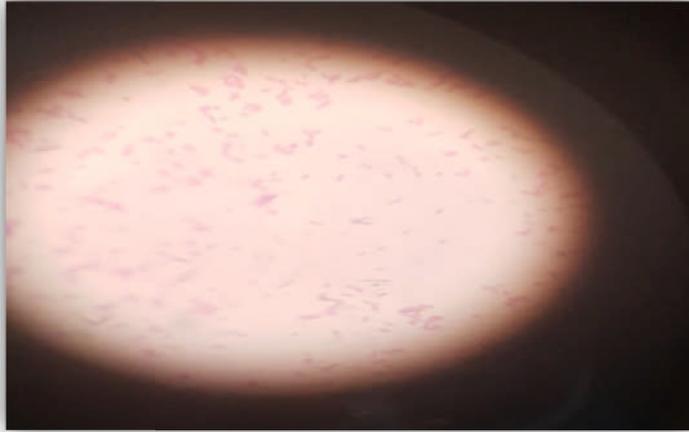


Figure 8: Escherichia coli sous microscope optique

II.2.4.2. Identification biochimique :

II.2.4.2.1. Galerie API 20 E

Elle comporte 20 microtubes contenant des substrats deshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les substrats. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactif. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique.

❖ Préparation de la galerie :

Remplir les alvéoles de la boîte d'incubation Api 20E avec de l'eau distillée pour créer une atmosphère humide. Inscrire le numéro de prélèvement sur la languette latérale de la boîte.

❖ Préparation de l'inoculum et inoculation de la galerie :

Réalisation d'une suspension bactérienne avec de l'eau physiologie ; procéder ensuite à l'ensemencement de la galerie utilisée à savoir : Api 20E

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide d'une pipette pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles.
- Pour les tests CIT, VP et GEL remplir le tube et la cupule, pour les autres tests remplir uniquement les tubes, pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE créer une anaérobiose en remplissant les cupules d'huile de paraffine.

❖ Incubation :

Placer la galerie dans l'incubateur et incuber à 37°C pendant 24h.

❖ Lecture de la galerie:

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se rapportant au tableau de lecture.

Tous tests nécessitent l'addition de réactifs :

Test Tryptophane Désaminase (TDA) : on ajoute une goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

Test Voges-Proskauer (VP) : on ajoute une goutte de réactif VP1 et VP2 puis on attend au minimum 10 min. une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

Test Indole (IND) : on ajoute une goutte de réactif James. Un anneau rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.



Figure 9: Réactifs ajoutés pour lire la galerie

❖ Interprétation de la galerie :

L'identification est obtenue à partir du profil numérique : sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1 ; 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La

galerie API 20 E comportant 21 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres.



Figure 10: Profil biochimique sur galerie API 20E d'E .coli

II.2.4.2.2. Antibiogramme

➤ Principe

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus.

Le principe consiste à placer la culture de bactérie en présence d'un ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci.

Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante.

❖ Milieu :

La gélose Muller Hinton est un milieu de base qui permet la réalisation de l'antibiogramme standard. Elle est liquéfiée, coulée dans des boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm et sèche avant l'utilisation.

❖ Inoculum :

L'inoculum est préparé à l'aide des colonies isolées et prélevées puis mises dans un tube qui contient du bouillon nutritif. Ce dernier est étuvé pendant 30 min puis une goutte d'inoculum est homogénéisée dans un tube contenant de l'eau physiologique.

❖ Ensemencement :

L'ensemencement se fait :

Par inondation : l'inondation se fait avec 5 ml de la suspension sur gélose de Muller Hinton, laissée en contact 30 secondes puis mise à sécher 15 minutes à 37°C.

Par écouvillonnage (méthode de Kirby) : le milieu estensemencé par stries très serrées en 3 passages en faisant pivoter de 60°C.

❖ Application des disques d'antibiotiques :

Les disques d'antibiotiques sont déposés sur la gélose avec une pince métallique stérile, une fois placé le disque ne doit pas être déplacé aussi il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre.

Les boîtes sont incubées 24h à 37°C.

❖ Lecture :

La lecture doit se faire dans les délais recommandés : 18 à 24h pour la méthode par diffusion pour les bactéries de croissance rapide et 2 à 3 jours pour les espèces de croissance difficiles.

La zone d'inhibition circulaire est mesurée par le diamètre en millimètres selon divers moyens (règle, compas ou pied à coulisse).

Il sera possible de calculer la CMI (mg/l) de l'antibiotique c'est-à-dire la concentration minimale inhibitrice pour la souche examinée en reportant ce diamètre sur une courbe de

concordance, préétablie à l'avance avec une centaine de souches (échantillonnage) de sensibilités différentes.



Figure 11 : Exemple d'antibiogramme sur gélose Mueller-Hinton (photo personnelle)

➤ **Choix des antibiotiques**

Au total 12 antibiotiques ont été testés, parmi les utilisés en élevage bovin, et selon les listes d'antibiotiques recommandés pour la surveillance des pathogènes vétérinaire, ce sont :

Enrofloxacin, sulfamide, cefalexine, colistine, kanamicine, tetracycline, bacitracine, sulfaméthoxazole, amoxiciline, sulfamidine, amoxiciline+acide clavulanique, flumiquine.

III. Résultats :

Au total, 50 prélèvements ont été réalisés à partir de fèces de veaux. Sur les 50 prélèvements tous ont présentés une culture positive Envers E. coli.

Les commémoratifs étaient notés sur une fiche, puis triés en fonction de l'âge, comme le montre la figure n°12

III.1. Distribution des prélèvements en fonction de l'âge :

Les prélèvements sont pratiqués au hasard chez des sujets d'âges différents.

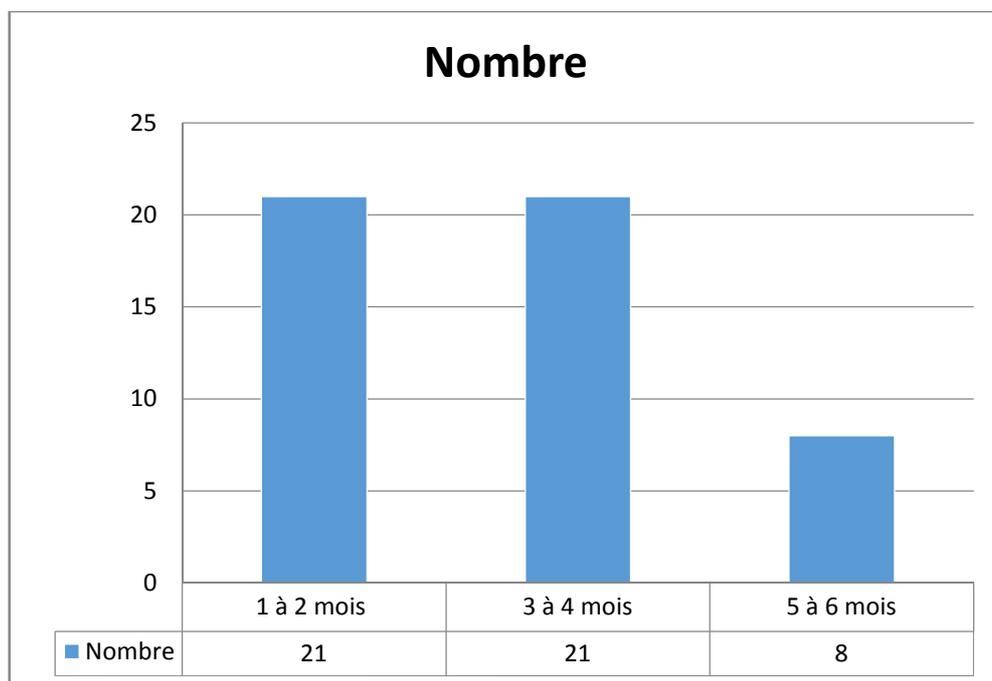


Figure 12: Distribution des prélèvements positifs en fonction de l'âge

Le nombre d'isolats par tranches d'âge est réparti également avec un nombre plus élevé pour les tranches d'âges (1 à 2mois) et (3 à 4 mois).

III.2. Résultats des antibiogrammes :

L'antibiogramme a été réalisé selon les normes des l'OMS. La fréquence de résistances de 50 souches, vis-à-vis de 12 antibiotiques est présentée dans le tableau n°6.

Tableau 6: Résultats des antibiogrammes

Les antibiotiques	Résistante		Intermédiaire		Sensible	
	Nombre de souche	%	Nombre de souche	%	Nombre de souche	%
Enrofloxacin	6	12 %	4	8 %	40	80%
Sulfamidine	12	24%	5	10%	33	66%
Cefalexine	5	10%	4	8%	41	82%
Colistine	0	0%	0	0%	50	100%
Kanamycine	6	12%	0	0%	44	88%
sulfaméthoxazole	11	22%	0	0%	39	78%
Tétracycline	34	68%	7	14%	9	18%
Sulfamide	10	20%	4	8%	36	72%
Bacitracine	18	36%	0	0%	32	64%
Amoxiciline	20	40%	1	2%	29	58%
AMC	20	40%	1	2%	29	58%
Flumiquine	18	36%	0	0%	32	64%

Ces résultats sont représentés sous forme d'histogramme

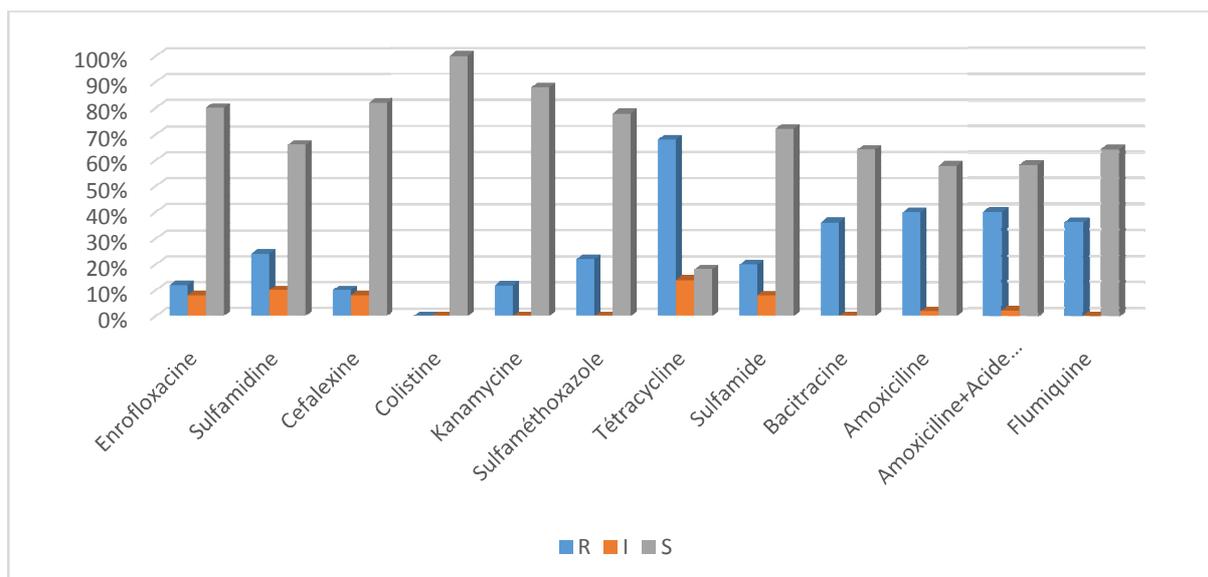


Figure13 : Sensibilité globale des souches vis-à-vis des antibiotiques testés

R : Résistante

I : Intermédiaire

S : Sensible

Les résultats que nous avons obtenus sur la résistance aux antibiotiques d'*E. Coli* peuvent être classés en trois groupes :

Groupe 1 : comprend des antibiotiques pour lesquels des taux élevés de résistance sont observés, il s'agit de tétracycline (68%).

Groupe 2 : comprend des antibiotiques pour lesquels des taux moyens de résistance sont observés, flumiquine et bacitracine (36%), amoxiciline et AMC (40%),

Groupe 3 : comprend des antibiotiques pour lesquels des taux bas de résistance sont observés, cefalexine (10%), enrofloxacin et kanamicine (12%), sulfaméthoxazole (22%), sulfamide (20%), sulfamidine (24%).

La colistine est l'antibiotique pour lesquels, il n'y avait pas de résistance.

Parmi les 50 souches d'*Escherichia coli* isolées, 66 des souches sont résistantes à au moins 2 antibiotiques. Les résultats sont présentés dans le tableau n°7

Tableau 7: Fréquences des multi irrésistances d'*E. coli*

Nombre d'antibiotiques	Pourcentages des souches résistantes
2	66%
3	44%
4	36%
5	30%
6	20%
7	16%
8	8%
9	6%
10	4%

La multi résistante apparaît comme un véritable problème, car 66% des souches résistantes à au 2 antibiotiques. La plupart des souches, soit, 36% sont résistants à 4 antibiotiques, et près de la moitié sont résistantes à 5 antibiotiques (30%). Ces résultats sont représentés sous forme d'histogramme.

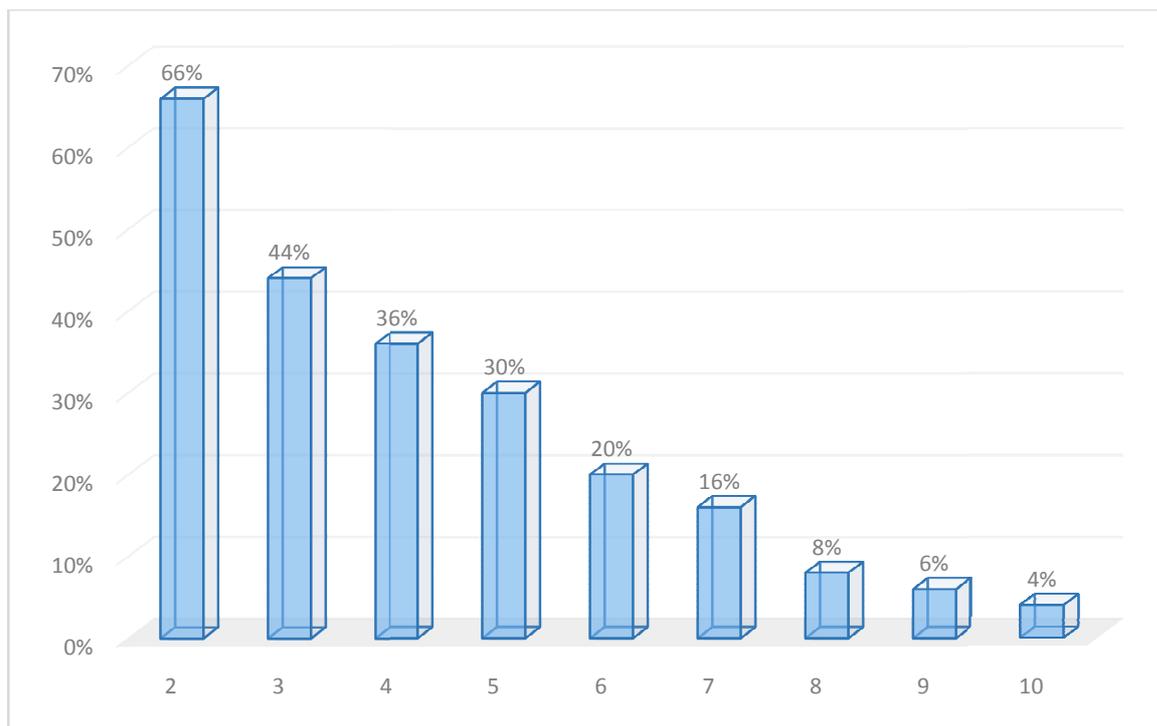


Figure 14: Fréquence des multi-résistances d'*E. coli*

IV. Discussion

Les résistances individuelles seront discutées par familles d'antibiotiques

❖ Tétracyclines :

Dans nos résultats les tétracyclines étant les antibiotiques qui représentent le plus de résistances (68%), ceci concorde avec les résultats de HAMMOUDI (Hammoudi A., 2006), AGGAD (Aggad H., 2010) et BENAMEUR (Benameur Q., 2014) dans l'ouest Algérien qui avait trouvé respectivement, des résistances très élevées de (82%, 87% et 90.4% en aviaire).

Au Sénégal, NDIYAYE (Ndiaye, 2010) avait rapporté une résistance très élevée envers l'oxytétracycline (98.15% en aviaire). Ceci démontre l'utilisation massive de cette molécule dans les pays en voie de développement. En Iran, RAHIMI (Rahimi, 2013), rapporte également un taux très élevé de résistance envers l'oxytétracycline (85.1% en aviaire). Ceci peut être dû à l'utilisation massive de cette molécule, que ce soit à titre prophylactique, curatif, ou comme facteur de croissance.

La résistance des bactéries aux tétracyclines est de nature plasmidique et l'existence d'une grande variété de déterminants génétiques, rend encore plus facile l'acquisition de gènes de résistance par conjugaison ou par transformation. (Tricia D Miles, 2006)

L'existence d'aliments médicamenteux à base d'oxytétracycline, comme facteur de croissance, sur le marché algérien est aussi incriminée. Pendant plusieurs années les effets positifs de cette pratique étaient mis en lumière. Cependant, les effets néfastes étaient indétectables. Beaucoup de scientifiques se sont penchés sur cette pratique.

❖ B-lactamines :

Le taux de résistance retrouvé dans notre étude envers l'amoxiciline et l'association amoxiciline+acide clavulanique est moyenne, elle est de l'ordre de (40%), le taux de résistance de cette dernière correspond aux résultats enregistrés dans le programme français de la surveillance, de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale (39.9%) chez des veaux diarrhéiques. (Anne, 2006) .

Cette résistance est plus faible que celle rapportée par Cheikh NDIYAYE au Sénégal qui est de (74.08% en aviaire) (Ndiaye, 2010) et par BENAMEUR, dans l'ouest Algérien (92.1% en aviaire) (Benameur Q., 2014).

Divers mécanismes de résistance des *E.coli*, envers les molécules de cette famille sont décrits, l'imperméabilité et l'excrétion de l'antibiotique par efflux sont ceux qui concernent probablement la résistance envers l'amoxiciline+acide clavulanique, car la résistance par production de B-lactamases n'est pas plausible pour cette molécule, elle l'est par contre pour la résistance à l'ampicilline.

Un taux bas de résistance aux cefalexine (10%) a été obtenu dans notre travail de recherche, ce qui correspond à celui enregistré dans le programme français de surveillance, de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animales (11.3%) chez les veaux diarrhéique durant la période (2003-2004). (Anne, 2006)

❖ Quinolones et dérivés :

Le taux de résistance retrouvé dans notre étude envers flumiquine est moyen (36%). En Iran, RAHIMI et al (Rahimi, 2013) ; rapporte un taux élevé pour cette molécule (81.8% en aviaire).

En ce qui concerne le taux de résistance à l'enrofloxacin, il est bas dans notre étude (12%), et donc concorde approximativement aux résultats de HAMMOUDI (6% en aviaire) (Hammoudi A., 2006), cependant AGGAD (Aggad H., 2010) a enregistré un taux moyen (45% en aviaire). Par ailleurs BENAMEUR (Benameur Q., 2014) et RAHIMI en Iran ont signalé un taux élevé de résistance à l'enrofloxacin qui est respectivement de (69.3% et 79.2% en aviaire).

Amara et al (1995) à commencer à déceler l'antibiorésistance aux quinolones (23% en aviaire). L'étude rétrospective de Jaouzi et al (2004) a montré l'évolution du taux de résistance entre 1988 et 2003. Et a trouvé que le taux de résistance de l'enrofloxacin en (1999) est de (34% en aviaire). (Rahmatallah. N., 2016).

❖ Kanamycine :

Le taux de résistance de kanamycine trouvé dans notre étude est de (12%), alors celui enregistré dans le programme français de surveillance, de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale est élevé (59,5%) chez les veaux atteints de pathologies digestives (diarrhée) durant l'année 2003-2004 (Anne, 2006).

❖ Polypeptides :

Dans notre étude aucune résistance à la colistine n'a été trouvée (0%), ce qui est approximativement le cas du résultat enregistré dans le programme français de surveillance, de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale (1.5%) sur des veaux diarrhéiques. (Cas de 1229 souches). Un taux de résistance de (0.4%) a été également enregistré chez des vaches atteintes de mammites. (Anne, 2006)

Par ailleurs BENAMEUR a trouvé un taux élevé de résistance à la colistine (31.6% en aviaire). La colistine connaît un taux de résistance relativement stable ces dernières années (2.9% en aviaire) malgré une utilisation accrue en pratique. Le faible taux de résistance est en majorité dû à son mode d'action sur les bactéries. En effet, la colistine possède une action létale surfactive et de perméation sur les membranes bactériennes par interaction avec des protéines et les phospholipides membranaires.

Les résistances rencontrées sont le fait de modifications de protéines membranaires chez les bactéries. Cependant la récente découverte d'une enzyme codée par un plasmide mobile circulant chez des entérobactéries poserait un sérieux problème quand à l'utilisation de la colistine. (Rahmatallah. N., 2016)

En ce qui concerne la bacitracine on a trouvé un taux de résistance (36%).

❖ Sulfamides :

Notre étude a montré des taux bas de résistance envers les sulfamides, sulfaméthoxasole et sulfamidine et ce avec les valeurs mentionnées respectivement : (20%, 22% et 24%). Nos résultats sont inférieurs par rapport à ceux enregistrés dans le programme français de surveillance, de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale avec un taux moyen de (37.7%) pour l'association triméthoprime-sulfaméthoxasole chez les veaux diarrhéiques. (Anne, 2006)

Multi-résistance :

Dans notre travail de recherche nous avons trouvé que 66% des souches sont résistantes à au moins 2 antibiotiques, des études dans le même cadre ont été réalisées en Algérie. Nous citons Les travaux de MESSAI mentionné par Giovanardi et *al.* (Giovanardi.D., 2007). À l'est, HAMMOUDI (Hammoudi A., 2006) et AGGAD (Aggad H., 2010) à l'ouest et Abbachi (Abbachi.A, 2014) au centre de l'Algérie, ont retrouvés, respectivement que (100%, 93%, 72% en aviaire), et (100% des souches d'origine aviaire) sont résistantes à au moins 2 antibiotiques.

Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par MESSAI (Messai C., 2011). Dans notre étude 44% des souches sont résistantes à au moins à 3 antibiotiques, 30% sont résistantes à 5 antibiotiques, 20% sont résistantes à 6 antibiotiques, et 8% sont résistantes à 8 antibiotiques.

Dans l'étude de MESSAI (98.9% des souches d'origine aviaire) sont résistantes à 3 antibiotiques, 87.2% sont résistantes à au moins 5 antibiotiques, 83.3% sont résistantes à 6 antibiotiques, et 56.1% sont résistantes à 8 antibiotiques.

Les plasmides de résistance aux antibiotiques, expliquent une grande partie des multi-résistances chez *E. coli*. Un nombre très élevé de plasmides codant pour des résistances multiples sont rencontrés chez les entérobactéries, et l'émergence de nouvelles multi-résistances est favorisée par la mobilité des plasmides entre les différentes espèces d'entérobactéries. Les plasmides peuvent être regroupés en familles, dont les principales rencontrées chez des entérobactéries sont: repF, repl1, repN, repHI2, repA/C, repL/M (Carattoli, 2009).

Le taux élevé des multi résistances, suppose l'utilisation abusive des antibiotiques. De nombreux antibiotiques sont administrés de façon concomitante dans le cadre de la prophylaxie ou du traitement, ce qui augmenterait le risque des multi résistances.

La non réalisation des antibiogrammes d'orientations, implique la multiplication de ces pratiques et ainsi au développement des gènes de résistance.

Conclusion

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé animale et humaine en Algérie et à travers le monde. En effet, ces dix dernières années, nous avons assisté à une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques à l'échelle nationale en particulier chez les bacilles à gram négatif. (Ayad.A, 2016-2017)

Dans nos résultats l'antibiogramme a révélé que les tétracyclines représentent le taux le plus élevé de résistance (68%). Et que 66% sont résistantes à au moins 2 antibiotiques. Ces phénomènes de multi-résistances peuvent conduire à des impasses thérapeutiques.

Plus que jamais, l'utilisation raisonnée des antibiotiques est un objectif essentiel en termes de santé humaine et de santé animale, il ne suffit pas de réduire quantitativement la consommation d'antibiotiques mais d'en améliorer qualitativement leur utilisation.

Recommandations

Au vu des différents résultats que nous avons obtenus, il est possible de formuler des recommandations envers le pouvoir public, les professionnels de la santé animale, car la problématique de l'antibiorésistance en santé animale concerne tous les acteurs et décideurs des filières de production animale et parce qu'il existe une seule santé (concept « one Health »)

Recommandations en direction du pouvoir public :

- ❖ Concevoir et diffuser des outils de sensibilisation aux risques liés à l'antibiorésistance et de promotion des bonnes pratiques permettant de prévenir le recours aux antibiotiques à l'intention des éleveurs.
- ❖ Mieux prendre en compte le risque lié à l'antibiorésistance dans l'évaluation et la réévaluation du dossier d'AMM, en particulier pour les génériques
- ❖ Etablir la liste des antibiotiques « critiques » dont il faut prioritairement préserver l'efficacité pour l'homme
- ❖ Réprimer les usages illégaux et les trafics
- ❖ Poursuivre le suivi des ventes d'antibiotiques et de l'exposition en rendant obligatoire les déclarations de vente et analyser les données relatives aux aliments médicamenteux
- ❖ Renforcer le suivi de l'antibiorésistance, en créant des réseaux de surveillance et assurer la transparence des pratiques d'utilisations des antibiotiques dans le monde animal. A cet égard, l'expérience de l'usage communautaire des antibiotiques en France est intéressante

Recommandations en direction des vétérinaires :

- ❖ Œuvrer pour le respect de la déontologie vétérinaire et les directives des pouvoirs publics en matière d'élevage et de santé animale
- ❖ Recourir, aux analyses de laboratoire pour affiner leur diagnostic, et d'orienter leur traitements en fonction des résultats des antibiogrammes

- ❖ Sensibiliser et former les éleveurs sur les risques liés au manque d'hygiène et au danger de l'utilisation incontrôlée des antibiotiques
- ❖ Evaluer le bénéfice des traitements alternatifs permettant de limiter le recours aux antibiotiques

Recommandations en direction des éleveurs :

Les éleveurs sont les acteurs principaux de la filière bovine et qui sont en contact direct avec les bovins. Ils ont un rôle fondamental dans la gestion des fermes et l'amélioration de la productivité des cheptels bovins.

- ❖ Améliorer leur technicité en matière d'élevage bovin par des formations.
- ❖ Favoriser l'application des bonnes pratiques d'élevages (Habitat, alimentation, hygiène, biosécurité, gestion des déchets)
- ❖ Ne pas utiliser les antibiotiques sans l'avis du vétérinaire

Recommandation en direction des chercheurs :

- ❖ Soutenir un programme de recherche fondamentale sur les mécanismes de résistance
- ❖ Promouvoir la recherche dans le domaine de l'immunité et de l'utilisation de vaccins ou d'auto-vaccins
- ❖ Soutenir la recherche de nouvelles molécules antibiotiques réservées à la médecine vétérinaire et non critiques pour la médecine humaine

Bibliographie

- Abbachi.A. (2014).** *prévalence et profils d'antibiorésistances des souches E.coli isolées des poussins chair et oeufs embryonnés au couvoir de monsieur Bakhellal à taourga.*
- Abdani.S. (2016).** *EVOLUTION DE LA RÉSISTANCE BACTÉRIENNE AUX ANTIBIOTIQUES ET CONSEILS EN ANTIBIOTHÉRAPIE.* Thèse de doctorat en pharmacie, UNIVERSITE MOHAMMED V-RABAT,FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABATANNEE.
- Aggad H., Ahmed Ammar., Hammoudi. (2010).** *Antimicrobial resistance of Escherichia coli isolated from chickens with colibacillosis.*
- Anne. B.,(2006).** *Programme français de surveillance, de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale.* Agence Française de sécurité sanitaire des aliments.
- Ayad.A., (2017).** *Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez Escherichia coli au niveau des hôpitaux et de l'Ouest Algérien.* Université Abdou Bekr Belkaid-Tlemcen.
- Barka.M.,(2012).** *Recherche et caractérisation d'Escherichia coli entérohémorragique O157:H7 dans les viandes bovines importées en Algérie.* Thèse de doctorat en microbiologie, faculté des sciences, département de biologie, laboratoire de microbiologie appliquée, Oran.
- Benabdallah-Khoudja A., Hamlaoui Y., (2016).** *Etude phénotype des quelques souches d'Escherichia coli productrices de carbapénémases.* Master en Microbiologie générale et biologie moléculaire des microorganismes, Université des frères Mentouri Constantine,Faculté des sciences de la nature et de la vie, Constantine.
- Benameur Q., Geumourb. D., Hammoudi. A., (2014).** *Antimicrobial Resistance of Escherichia coli isolated from chickens in west of Algeria.*
- Carattoli, A. (2009).** *Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae.*
- Daillo, A. A. (2013).** *Escherichia coli pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaines et animale: prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire.* Thèse de doctorat, Université Toulouse III- Paul Sabatier, Microbiologie.
- Giovanardi. D., Campagnari. E et al., (2007).** *Avian pathogenic Escherichia coli transmission from broiler breeders to their progeny in an integrated poultry production chain.*

Grimont, P. (1987). *Taxonomie des Escherichia.*

Hammoudi A., Aggad. H. (2006). *Antibiorésistance of Escherichia coli strains isolated from chichen colibacillosis in western Algeria.*

Avril. J-L., Dabernat. H., Denis. F., Monteil. H.,. *Bcteriologie clinique.* édition ellipses, 3ème édition.

Kezzal.K. (1993). les antibiotiques: classification, résistance, action.

KHALED.H. (2017). cours de microbiologie spéciale destinés aux étudiants de 3 année vétérinaire. *Famille: Enterbacteriaceae* . Blida, institut des sciences vétérinaires, SAAD DAHLEB BLIDA-1, BLIDA.

LE MINOR. L., VERON. M., *Bactériologie médicale, 2eme édition* . 4, rue Casimir-Delavigne, 75006 Paris : Médecine-Sciences .

Messai C., Khalef. D., Bokhors. K., (2011). *Antibiorésistance de souches E.coli isolées de poulets de chair atteints de colibacillose, à l'abattoir avicole de Sétif.*

Mohammedi. D., (s.d.). *classification et mode d'action des antibiotiques.* Récupéré sur www.bactériologie.net.

Moulakia H., Ansar. K.,(2015). *Pathogénicité chez Escherichia coli.* master en sciences biologiques, Université des Frères Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie Animale, Génétique Moléculaire.

Rahmatallah. N., (2016). *Detection des souches multirésistantes d'Escherichia coli d'origine avaire dan la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer.*

Ndiaye, C. (2010). *Etude anatomo-clinique et bactériologique sur des cas suspects de colibacillose aviaire dans les régions de Dakar et Thies.*

Nougayréde, J.-P. (s.d.). *Wikipédia.* Consulté le juin 2019

Rahimi, M. (2013). *Antibiorésistances profile of avian pathogenic Escherichia coli isolates recovered from broiler chichen frams with colibacillosis in Kermanshah province, Iran.*

Reynaud A., Joly B. (2003). *Entérobactéries: systématiques et méthodes de dignostic.* paris: Ed TEC & doc Lavoisier.

Top Santé. (s.d.). (ACPM OJD, DIGITAL AD TRUST) Consulté le mars 2019, sur www.topsante.com.

Tricia D Miles, Wayne Mclaughlin and Paul D.Brown (2006). *Antimicrobial resistance Escherichia coli isolates from broiler chickens and humans.*

Maryse. M., (2016). *Escherichia coli entérohémorragique et/ou résistantes aux antibiotiques: contamination des effluents d'origine bovine.* thèse de doctorat, Université Toulouse III Paul Sabatier.

Williams (R.H.), Waener. P., (1980). *Infect- Immun.*

Annexe 1

Fiche d'enquête de chaque élevage

Date.....

- 1) Nom et Prénom de l'éleveur.....
- 2) Région :.....
- 3) Effectif :.....
- 4) Race
- 5) Sexe.....
- 6) L'âge de chaque animal prélevé est noté sur une étiquette collée sur le prélèvement

Annexe 2

Matériel non biologique :

- Pots de prélèvement
- Fiches de commémoratifs.

Les produits consommables pour le diagnostic bactériologique :

❖ Coloration de gram :

- Les lames
- Les colorants (violet de gentiane, fuchsine)
- Lugol
- L'huile à immersion
- Papier absorbant
- Pipette pasteur

❖ Milieux de cultures :

- Gélose nutritive
- Hektoen

Les produits consommables pour l'identification des bactéries :

- La galerie API : API 20^E : pour l'identification des espèces de la famille Enterobacteriaceae.
- l'eau physiologique stérile
- tubes stériles pour la préparation des suspensions bactériennes
- les réactifs :
 - VP1 et VP2
 - Kovacs
 - TDA