

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

**Antibiorésistance des souches d'Escherichia coli chez poulet de chair
dans les deux Daïra de Mekla et Azazga de la Wilaya de Tizi Ouzou**

Présenté par :

Rihane Sabiha

Ouiza Mehanek

Devant le jury :

Président(e) :	HAMZA.H	MCB	ISV BLIDA
Examineur :	AKLOUL.K	MAA	ISV BLIDA
Promoteur :	MERDJA .S.E	MCB	ISV BLIDA

Année universitaire: 2018/2019

Dédicaces

Nous dédions ce modeste travail à

A mes très chers parents

Affables. Honorables. Aimables. Vous représentez pour moi le

Symbole de la bonté par excellence. la source de tendresse et l'exemple

Du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour

Notre éducation et notre formation

A mes chères sœurs et à leurs maries et enfants Ahlem, Ania, Hassen, Billel.

A mes frères et à leurs maries et enfants Assalas, Wissem.

A mon binôme Ouiza

A toute mes amies Karima, Ghania, Amina, Djihad.

Nous ne pouvons trouver les mots justes et sincères vous exprimer

Nos affections et nos pensées. Vous êtes pour nous des frères. Soeurs et des amis sur qui

Nous pouvons compter

Sabiha.

Dédicaces

Nous dédions ce modeste travail à

A mes très chers parents

Affables. Honorables. Aimables. Vous représentez pour moi le

Symbole de la bonté par excellence. la source de tendresse et l'exemple

Du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour

Notre éducation et notre formation

A mes chères sœurs Lynda et Farah

A mes frères Djmel, Mouhend et mahdi

A mon binôme Sabiha

A tous mes amis Karima Mima.

Nous ne pouvons trouver les mots justes et sincères vous exprimer

Nos affections et nos pensées. Vous êtes pour nous des frères. Soeurs et des amis sur qui

Nous pouvons compter

Ouiza

Remerciements

On remercie ALLAH, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la

Patience de mener à terme ce travail.

Notre remerciement s'adresse également à notre encadreur Merdja Salah-Eddine pour avoir accepté de diriger ce travail. Son soutien, ses conseils, son encouragement et ses compétences

Nos vifs remerciements pour les membres du jury à commencer par Mr Akloul, K et Khaled, H. A qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.

D'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

En remercie Dr NAFA ROZA de nous avoir accueillis dans son cabinet et d avoir accepter de faire des recherches et analyse dans son cabinet

Enfin nous remercierons chacune des personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

E. Coli est responsable d'une maladie redoutable chez l'espèce aviaire, de part de pertes économiques qu'elle cause, c'est la colibacillose. Sur les 74 prélèvements suspects, 59 ont présenté une culture positive envers *Escherichia coli* ce qui représente 75,67% de prélèvement pathologiques dans des deux Daïra Mekla avec 65,90% et Daïra d'Azazga avec 66,66% et testés vis-à-vis de 14 antibiotiques. Les antibiogrammes ont montré des hauts niveaux de résistance pour l'oxytétracycline avec 100% les deux daïras, suivie de la lincomycine en moyenne 94,6% entre deux Daïra et l'acide fusidique en moyenne de 91,6% et de la pénicilline avec de 87,7%, Sulfaméthazole+triméthoprim 82,75%, érythromycine 79,5%, ampicilline 70,23%, amoxicilline 67,29%, pristina mycine 64,96%. Des niveaux moyes de résistance pour la colistine en moyenne de 39,87% et doxycycline 38,93%, Spiramycine 37,81%, et les molécules a faible résistance contre *E. Coli* et l'enrofloxacin avec 7,04% en moyenne et céfotaxime avec 5,9%. Cette résistance représente un danger pour la santé animale et humaine, sachant que l'antibiothérapie reste le seul moyen pour contrôler la colibacillose.

Mots clés : *Escherichia coli*, Antibiorésistance, Poulet de chair, Daïra Azazga, Daïra Mekla.

Abstract

The bacterium *Escherichia coli* is responsible of fearful disease of chickens because of its economic loses which is the colibacillosis. In seventy four suspected samples, tested with fourteen antibiotics; fifty nine where presented a positive culture for *Escherichia coli* which represents 75.67% of pathological samples both in Daïra Mekla with 65.90% and Daïra d'Azazga with 66.66%. The antibiogram showed high levels of resistance for oxytetracycline with 100% in the two daïra, followed by lincomycin on average 94.6% and fucidic acid on average of 91.6% and penicillin with 87.7%, sulphamethazole + trimethoprim 82.75%, erythromycin 79.5%, ampicillin 70.23%, amoxycillin 67.29%, pristinamycin 64.96%. Medium resistance levels were fined for closeting with 39.87% and doxycycline 38.93%, spiramycin 37.81%, and low-resistance molecules against *Escherichia coli* was enrofloxacin with an average of 7.04% and cefotaxime with 5.9%. This resistance represents a danger for animal and human health, knowing that antibiotic therapy remains the only way to control colibacillosis.

Key word: *Escherichia coli*, broiler, colibacillosis, antibiotic resistance, Daïra Azazga, Daïra Mekla.

ملخص

اشيريشياكولي مسؤولة عن مرض مخيف عند الدواجن من حيث الخسائر الاقتصادية التي تسببها وهي الكوليباسيلوز. من بين العينات ال 74 المشتبه فيها ، كان لدينا 59 منها إيجابية تجاه اشيريشياكولي الذي يمثل 75.67 % أخذ العينات المرضية في كل من دائرة مقلع بنسبة 65.90 % و دائرة عزازقة بنسبة 66.66 % واختبارها مقابل 14 من المضادات الحيوية. أظهرت المضادات الحيوية مستويات عالية من المقاومة للأوكسيتراسيكلين بالنسبة 100 % في كلتا الدائرتين ثم تليها لنكوميسين في المتوسط بالنسبة 94.6 % بين الدائرتين وحمض الفوز يدك في المتوسط بالنسبة 91.6 % والبنسيلين بنسبة 87.7 % ، السولفاميثازول + تريمتوبريم بالنسبة 82.75 % ، الإريثروميسين بالنسبة 79.5 % ، الأمبسلين بالنسبة 70.23 % ، الأموكسيسيلين بالنسبة 67.29 % ، بريستيناميسين بالنسبة 64.96 % . بلغت مستويات المقاومة متوسطة للكوليستين بالنسبة 39.87 % والدوكسيسيكليين بالنسبة 38.93 % ، سبيراميسين 37,81 % وجزئيات مقاومتها منخفضة ضد اشيريشياكولي هي الإينروفلوكساسين بمتوسط نسبته 7.04 % وسيفوتاكسيم بنسبة 5.9 %

تمثل هذه المقاومة خطراً على صحة الإنسان والحيوان ، مع العلم أن العلاج بالمضادات الحيوية لا يزال هو السبيل الوحيد للسيطرة على داء الكوليباسيلوز.

الكلمات المفتاحية: اشيريشياكولي ، مقاومة المضادات الحيوية ، دجاج اللحم ، دائرة مقلع دائرة عزازقة.

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste d'abréviation

Introduction.....	2
Chapitre I : <i>Escherichia coli</i>	4
1-HISTORIQUE	4
2) Taxonomie :.....	5
3) Habitat :.....	6
Chapitre II : Biologie d' <i>Escherichia Coli</i>	7
1) Morphologie :.....	7
2) Culture :.....	7
3) Biochimie :.....	7
4) Pouvoir pathogène :.....	8
4.1) Adhésines :.....	8
4.1.1) Fimbriae de type 1.....	8
4.1.2) Fimbriae de type P.....	9
4.1.3) Curli:.....	10
4.1.4) Autres adhésines	10
4.2) Résistance au sérum :	10

4.3) Systèmes de captation du fer :	11
4.4) Toxines :	11
4.5) Hémagglutination.....	12
Chapitre III : Antigènes d' <i>Escherichia coli</i> et Immunité.....	13
1-Antigènes d' <i>Escherichia coli</i> :	13
1.1.L'antigène O somatique :	13
1.2.Antigènes de surface ou d'enveloppe K :	13
1.3.Antigène flagellaire H :	14
2-Immunité d' <i>Escherichia coli</i> :	14
CHAPITRE 4: Etiopathogénie et l'épidémiologie de la Colibacillose chez la volaille.....	15
1.Etiopathogénie :	15
2.Notion d'épidémiologies de la colibacillose chez la volaille :	16
2.1) Importance :	16
2.2) Source d'infection et mode de contamination :	16
Chapitre VI : Clinique de colibacillose chez la volaille.....	18
1.Symptômes et lésions associées:	18
1.1) Symptôme généraux :	18
1.2) Symptômes locaux et lésions macroscopiques :	18
1.2.1) Forme septicémique ou colisepticémie :	18
1.2.2) Forme respiratoire.....	19
1.2.3) Omphalite :	20
1.2.4) Forme génitales :	21
1.2.5) La Coligranulomatose (maladie de Hjarre) :	22
1.2.6) Arthrites et les synovites :	22

1.2.7) Mortalités embryonnaires et du jeune poussin :.....	22
1.2.8) Syndrome de la tête enflée ou Swollen head disease :.....	23
2.Evolution :.....	23
3.Le diagnostic différentiel.....	24
Chapitre 6: Traitement et Prophylaxie.....	25
1.Traitement :.....	25
2-Prophylaxie :.....	26
2.1) Prophylaxie sanitaire :.....	26
2.2) Prophylaxie médicale :.....	26
Chapitre 7 : Les antibiotiques et l'antibiorésistance.....	27
1.Antibiotique :.....	27
1-1-Définition :	27
1-2-Historique :.....	28
1.3) Classification des antibiotiques :.....	29
1.3.1) Bétalactamines :.....	29
1.3.2) Aminosides :.....	29
1.3.3) Quinolones :.....	29
2.Résistance bactérienne :	29
2.1) Définition :.....	29
2.2) Types de résistance aux antibiotiques :.....	30
2.2.1) Résistance naturelle (intrinsèque) :.....	30
2.2.2) Résistance acquise (extrinsèque) :.....	30
2.2.2.1) Résistances chromosomiques :.....	31
2.2.2.2) Résistance par l'acquisition des gènes :.....	31

2.3) Mécanismes de la résistance bactérienne :.....	32
2.3.1) Inactivation ou dégradation des antibiotiques par des enzymes :.....	32
2.3.2) Diminution de perméabilité :.....	32
2.3.3) Acquisition d'un déterminant de résistance exogène :.....	33
2.3.4) Pompes (transporteurs) à efflux :.....	33
2.3.5) Résistance inductible :.....	33
2.3.6) Altération (ou modification) des sites de liaison :.....	33
3. AntibioGramme :.....	34
Partie expérimentale	36
1. Problématique.....	36
2. Objectif de l'étude.....	36
3. Région et période de l'étude.....	36
3.1) Présentation de la Daïra de Mekla :.....	36
3.2) Présentation de la daïra d'Azazga :.....	36
4. Matériel et méthodes :	37
4.1) Matériel :.....	37
4.2) Méthode :.....	39
4.2.1) Prélèvement:	39
4.2.1.1) Autopsie.....	39
4.2.1.2) Décongélation des prélèvements :.....	40
4.2.1.3) Découpe des organes :.....	40
4.2.1.4) Isolement des germes	41
4.2.1.5) Identification des germe :.....	41
4.2.2) AntibioGramme:.....	42

4.2.2.1) Principe :.....	42
4.2.2.2) Choix des antibiotiques :.....	44
5) Résultat	45
5.1) Fréquence des différentes lésions retrouvées :.....	45
5.2) Examen bactériologique :	48
5.3. Résultat d'antibiogramme :.....	48
5.3.1 Daïra de Mekla :.....	48
5.3.2. Daïra d'Azazga :.....	50
6. : Discussion	52
7. Conclusion :	52
Annexe	53

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Caractères biochimiques d' <i>Escherichia coli</i> .	5
Tableau 2 : Lésions induites par <i>E. Coli</i> selon sa virulence (peu ou très pathogène)	14
Tableau 03 : Classification des antibiotiques selon leurs sites d'action.	19
Tableau 4 : la fréquence des différentes lésions de colibacillose rencontrées lors de l'examen nécropsique.	38
Tableau 5 : résultats des antibiogrammes de la Daïra de Mekla.	41
Tableau 6 : résultat d'antibiogramme de la Daïra de Azazga	42

La liste des figures

Figure 01 : Formation de l'exsudat fibrino-hétérophilique caséeux lors d'une colibacillose...	15
Figure 02 : Colisepticémie : carcasse rouge, foie dégénéré et aspect luisant	19
Figure 03 : Colibacillose aviaire. Péricardite et périhépatite fibrineuses aiguës	20
Figure 04 : Infection colibacillaire de la grappe ovarienne accompagnée d'une salpingite....	21
Figure 05 : Les différents mécanismes de la résistance d'une bactérie aux antibiotiques.....	32
Figure 06 : Matériels utilisé pour la bactériologie.....	38
Figure 07 : Bec Bunsen et anse de platine (photo personnelle).....	38
Figure 08 : Pipette Pasteur automatique (photo personnelle).....	39
Figure 09 : Autopsie d'un poussin cadavre (photo personnelle).....	40
Figure 10 : Découpe des organes (photo personnelle).....	40
Figure 11 : Colonie d' <i>E. Coli</i> sur gélose Hektoen.....	41
Figure 12 : Gélose Muller Hinton.....	42
Figure 13 : Ensemencement de la gélose.....	43
Figure 14 : Exemple d'antibiogramme sur gélose Mueller-Hinton.....	44
Figure 15 : Représentation des différentes fréquences des lésions retrouvées.....	46
Figure 16 : Péricardite et dépôt de fibrine sur le foie (aspect général da la colibacillose)....	46
Figure 17 : Aspect d'une péricardite.	47
Figure 18 : congestion de l'intestin (photo personnelle).....	47
Figure19 : Néphrite (photo personnelle).....	47
Figure 20 : Dégénérescence du foie, péricardite et péritonite.....	48

Figure 21 : Dégénérescence du foie, péricardite et péritonite.....48

Figure 22 : Résultats des antibiogrammes dans la daïra de Mekla.....49

Figure 23 : Résultats des antibiogrammes dans la Daïra d'Azazga.....51

La liste d'abréviation

AND: Acide Désoxyribonucléique.

APEC: Avian Pathogenic Escherichia coli.

CLDT: Cyto Lethal Distending Toxin.

CMI: Concentration minimale inhibitrice.

E. Coli: Escherichia coli.

ExPEC: Extra Intestinal Pathogenic Escherichia coli.

Km: Kilomètre.

LPS: Lipopolysaccharide.

MAC: Complexes d'attaque membranaire.

MEC: Matrices Extra Cellulaire.

NCCLS: National Comity for Clinical Laboratory Standards.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

UPEC: Uro Pathogenic Escherichia coli.

Introduction

Introduction

Historiquement, dès les années 70, l'aviculture algérienne a bénéficié d'importants investissements qui lui ont permis d'évoluer très rapidement vers un système de production de type intensif et, de ce fait, assurer à la population un apport privilégié en protéines animales.

Aussi, cette évolution s'est faite sans maîtrise des règles d'hygiène entraînant le développement dans les élevages de diverses pathologies aux conséquences souvent désastreuses pour la volaille, voire pour l'homme. C'est le cas de la colibacillose aviaire, une infection bactérienne, due à *Escherichia coli*, très fréquente en aviculture.

Les *Escherichia coli* aviaires, bien que considérés par beaucoup comme pathogènes secondaires, représentent à l'heure actuelle l'une des plus importantes causes de pertes économiques dans le secteur avicole. Elles conduisent de surcroît à de nombreux traitements antibiotiques avec les risques d'émergence de résistance qui les accompagnent

(Sotrdeur et Mainil, 2002).

L'augmentation des résistances bactériennes à l'échelle mondiale représente une menace majeure pour la santé publique.

La première partie de ce document va s'attacher à effectuer une étude bibliographique sur la biologie d'*Escherichia coli* et la colibacillose qui a causé des mortalités chez le poulet de chair. La seconde partie présente une étude bactériologique et d'antibiorésistance des souches d'*E. Coli* à partir des prélèvements effectués sur le poulet de chair dans les deux Daïra de Mekla et Azazga.

Partie bibliographique

Chapitre I : *Escherichia coli*

1-Historique :

En 1885, Théobald Escherich publia le texte d'une conférence dans laquelle, il décrit le bacille bacterium coli qui deviendra *E.Coli*. Escherich ne constate que ce germe, qui fait partie de la intestinale tue le lapin et le cobaye lorsqu'il est injecté à forte dose **(Borne,1998)**.

E.Coli, est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique **(Avril et al ,2000)**.

En 1889, Laruelle venait en premier à suggérer la possibilité de pathogénicité d'*E.Coli*, d'où l'attention a été fixée envers ses potentialités pathogéniques et les méthodes qui permettent de les différencier des autres coliformes.

Un grand nombre d'investigateurs ont fait un rapport sur l'isolement des coliformes à partir de l'infection septicémique des oiseaux.**(Ligniers .1894, Martel .1897,Claussen,1907,Leiss, 1914, Palmar et Baker,1923, Davis,1938 et Twisselman,1939)**.Quelques-uns ont suggéré qu'*E. Coli* peut causer une septicémie, si la résistance de l'oiseau est devenue faible à cause de la soif, la faim et des températures extrêmes **(Claussen ,1907 et Davis,1938)**.

En revanche en 1940, Buena trouvé que les coliformes se trouvent en général dans la partie inférieure du tractus digestif des poules. Par la suite, en 1946 Osborne et al. ont fait subir à 24 poussins jeunes, des inoculations de diverses souches d'*E.Coli* par voie intra péritonéale .Au bout de 24h, tous les poussins sont tombés malades et deux seulement ont survécu **(Biester et Schwarte,1959)**.

Cordon, en 1959 décrit une maladie respiratoire compliquée d'aérosacculite due au seul *E.Coli*. Suite aux travaux de Gross (1956) ,Renault, Lafont et Schricke ont pu montrer en (1960-1961), que l'injection intra péritonéale à des poussins de 10^5 à 10^6 colibacilles entraînaient la mort de 50 % des sujets avec des lésions fibrineuses identiques aux infections respiratoires compliquées d'aérosacculite.

En 1961, Reid montre que par trempage des œufs dans une culture d'une souche pathogène pour le poussin d'un jour, il obtient une baisse d'éclosion et augmentation du taux de mortalité.

Le rôle pathogène de certaines souches d'*E. Coli* chez les volailles, semble inconstable, même s'il intervient avec d'autres facteurs favorisants.

En 1965, Hemsley, ont constaté qu'il n'y avait pas de contamination entre poussins issus de parents différents, élevés dans des poulaillers voisins, ceci a confirmé que la colibacillose du poussin correspond essentiellement à une maladie contractée d'éclosion.

Bessarabov et *al*, en 1972, pour la forme respiratoire observée chez les poussins comme chez les poulets, ont constaté qu'elle est en rapport avec une infection des sacs aériens et que la contamination ne s'effectue pas par voie cloacale mais par voie aérienne.

En 1973, les travaux de William Smith en Angleterre, ont montré 87% d'*Escherichia coli* pathogènes isolées présentent une résistance aux antibiotiques, et que 60 % résistaient à plus d'un antibiotique (**Lafont,1973**).

2) Taxonomie :

La classification d'*E. Coli* selon le Bergey's manual (**Soumaila, 2012**) :

- a. Règne : Procaryotae
- b. Domaine : Bacteria
- c. Phylum : Proteobacteria
- d. Classe : Gammaproteobacteria
- e. Ordre : Enterobacteriales
- f. Famille : Enterobacteriaceae
- g. Genre : *Escherichia*
- h. Espèce : *Escherichia coli*

L'espèce *E.Coli* est constituée d'une multitude de souches qui peuvent être différenciées et classées par la détermination de leurs biotypes, sérotypes et lysotypes.

Le biotype est le profil biochimique des souches. A côté des caractères d'espèce, les souches d'*E.Coli* varient, en effet, par différents autres caractères biochimiques (**Bergan, 1984**)(**Brenner, 1984**) (**Bettelheim, 1994**).

Le sérotype est défini par la combinaison de certains antigènes de surface que l'on peut mettre en évidence: les antigènes somatiques O (de l'Allemand "OhneKapsel") de nature lipopolysaccharidique (LPS), les antigènes capsulaires K (ou antigènes de Kauffmann) de nature polysaccharidique et les antigènes ciliaires H (de l'Allemand "Hauch") de nature protéique(**Orskov, 1984**). Les bases du schéma d'identification par sérotypie ont été définies par Kauffmann(**1947**) (**Kaeckenbeeck, 1993**).

Le lysotype est le spectre de sensibilité d'une souche à une collection de bactériophages (**Sojka, 1965**). Cependant, contrairement au sérotypage, il n'existe pas de collection internationale de référence de bactériophages à utiliser. Aussi, la lysotypie est-elle relativement peu appliquée, sauf pour certaines souches particulièrement importantes en pathologie (**Lior, 1994**).

3) Habitat :

E.Coli, hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux souvent retrouvé en petit nombre dans les urines saines, est une bactérie largement répandue dans le milieu extérieur; elle ne semble cependant pas pouvoir y mener une vie saprophyte authentique : sa présence en quantité importante témoigne d'une contamination fécale récente. Les mammifères et la volaille sont colonisés par *E.Coli* les premiers jours après la naissance ou l'éclosion de l'œuf ou contact du milieu extérieur (**Pilet et al, 1979**)

Chapitre II : Biologie d'*Escherichia coli*

1) Morphologie :

Bacille à bout arrondi, Gram-, mesure approximativement 2 à 4µm de longueur sur 0.6µm de largeur, ne possédant ni capsule ni spores, elle se présente isolée ou en courtes chaînettes, et en quelques cas, sous forme de très long filaments. Pourvu de cils, elle est généralement mobile grâce à une ciliature péritriche mais cette mobilité est très variable selon le milieu où la souche a étéensemencée(Bey, 2009).

2) Culture :

Elle se développe 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 milieu Mac Conkey, Les colonies d'*E. Coli* Lactose-positives, sont de couleur rose à rouge, plates, sèches et de 2 à 3 mm de diamètre, elles sont généralement entourées d'une zone rose plus foncée des sels biliaries précipités. Les colonies *E. Coli* Lactose-négatives produisent des colonies incolores sur Mac Conkey (2013) qui sont de 2 à 3 mm de diamètre (Benabdallah-Khodja et Hamlaoui,2016).

3) Biochimie :

E. Coli possède une catalase mais est dépourvue d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces dernières permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille (Fluadroit, 2004).

Tableau 01 : Caractères biochimiques d'*Escherichia coli*(Fluadroit, 2004).

TEST	GL U	LA C	H2 S	GA Z	CS	GE L	M AL	LD C	NIT	OD C	ADH	UR E	TD A	V P	ES C
RESULTAT	+	+	+	+	-	-	-	+/-	-	+/-	+/-	-	-	-	-

+ : Caractère positif

- : Caractère négatif

+/- : Caractère inconstant

4) Pouvoir pathogène :

De nombreux critères ont été utilisés pour définir et quantifier le pouvoir pathogène des colibacilles isolés chez les oiseaux et capable de reproduire la maladie dans les conditions expérimentales (**Stordeur, Mainil, 2002**).

Un certain nombre de facteurs de virulence ont été étudiés chez les Avian Pathogenic Escherichia Coli (APEC). Ces facteurs de virulence regroupent les adhésines (fimbriaires) impliquées dans l'adhérence des bactéries au tractus respiratoire, la résistance à l'activité bactéricide du complément ou résistance au sérum, nécessaire à la survie des bactéries dans le sang, les systèmes de captation du fer (aérobactine), utiles à la multiplication des bactéries dans le sang, les toxines, et d'autres propriétés récemment décrites. En ce qui concerne les adhésines, les seules études actuelles ont été menées sur les fimbriae de type 1 ou F1 et les fimbriae de type P (**Stordeur P, Mainil J 2002**)

4.1) Adhésines :

Les adhésines ont été proposées comme facteurs de virulence bactérienne chez les APEC pour la première fois par **Arp et Jensen en 1980**, qui observèrent dans la trachée des dindons une persistance plus importante des souches virulentes d'*E.Coli* pourvues de fimbriae comparativement à des souches non virulentes et dépourvues de fimbriae.

En effet, les adhésines procurent à la bactérie la capacité d'adhérer aux tissus épithéliaux de l'hôte, cette phase d'adhésion étant une étape importante pour la pathogenèse de l'infection à *E.Coli*. L'adhésion permet à la bactérie de résister au système de défense, favorise la multiplication bactérienne et la formation de microcolonies. Les fimbriae de type 1, les fimbriae de type P et les curli sont les adhésines les mieux décrites dans la littérature concernant les APEC, mais de nouvelles adhésines impliquées dans la virulence des APEC sont régulièrement découvertes (**Bruger, 1992**).

4.1.1) Fimbriae de type 1 :

La plupart des APEC, tout comme les Extra intestinal Pathogenic Escherichia Coli (ExPEC) et les commensales, expriment le fimbriae de type 1. Ce fimbriae est codé par l'opéron *fimAICDFGH* et renferme des protéines impliquées dans la biosynthèse et la structure du fimbriae. Ce dernier est composé de plusieurs sous-unités protéique ancrées, à

sa base, à la membrane externe. Il se présente sous forme d'une tige filamenteuse ressemblant à de la ficelle, possédant un diamètre d'environ 7 nanomètre (nm) et une longueur de 0,1 à 2 micromètre (µm). Le fimbriae de type 1 est majoritairement formé par la sous-unité FimH, située à l'extrémité distale du fimbriae (**krogfelt, 1998**). Cette adhésion s'effectue au niveau des récepteurs glycoprotéique contenant des résidus D-mannose retrouvés au niveau des cellules eucaryotes et plus particulièrement ,au niveau de l'épithélium de la vessie, de l'intestin, des poumons, des reins ainsi que sur cellules inflammatoires (**la ragione, 2002**).

De plus, le fimbriae de type 1 peut se fixer à différents composants de matrice extracellulaire (MEC), dont la laminine, la fibronectine, le collagène ainsi que sur des surfaces abiotiques (**Mulvey, 2002**).

Etant donné que l'adhésion au tissu hôte est une étape clé dans l'instauration d'une infection, le fimbriae de type 1 est impliqué dans cette étape. Ainsi, chez les UPEC, le fimbriae de type 1 est impliqué dans la colonisation de la vessie, le site primaire d'infection, est associé aux cas de cystites. En plus de son rôle. D'adhésion, le fimbriae de type 1 est impliqué dans l'invasion du tractus urinaire, ce qui permet à la bactérie d'échapper aux mécanismes de défense de l'hôte. Il est aussi impliqué dans la formation des biofilmis, ce qui permet aux APEC de résisté à l'antibiothérapie, en plus de déjouer les défenses de l'hôte (**Kaper, 2004**). Chez les APEC, le fimbriae de type 1 est exprimer dans la trachée, les sacs aériens et les poumons .Puisque le tractus respiratoire supérieur est le site primaire d'infection des APEC, le fimbriae de type 1, autant chez les UPEC que chez les APEC, est impliqué dans l'instauration de l'infection (**Martinez, 2000**).

4.1.2) Fimbriae de type P :

Les fimbriae de type P sont morphologiquement et structurellement proche de fimbriae F1mais leur adhésines, PaPG, a pour récepteur un digalastosi de présent à la surface de certaines cellules eucaryote. L'opéron PaP, responsable de la synthèse des fimbriae P est chromosomique. Chez les *E. Coli* aviaire, les fimbriae P n'ont été détectés que les souches pathogènes, jamais les souches non pathogènes (**Dozois, 2000**). Les études sont divergentes quant à leur fréquence entre 30 à 40 % des souches possèderaient certaines des gènes intervenant dans la synthèse des fimbriae P, mais seul 10% des souches seraient capable de

les exprimer phénotypiquement. Les fimbriae P n'adhèrent pas in vitro aux cellules épithéliales du pharynx et de la trachée de poulets et ne sont pas exprimées in vivo, à ces localisations, cependant l'expression des fimbriae P a été mise en évidence in vivo, au niveau des sacs aériens et des organes internes, ces résultats suggèrent que, si les fimbriae P ne jouent aucun rôle dans la colonisation initiale de l'appareil respiratoire, ils pourraient intervenir dans des stades plus tardifs de l'infection, leur rôle dans les interactions avec les défenses immunitaires est actuellement à l'étude (**Dho-Moulin, 1999**).

4.1.3) Curli:

La très forte majorité des *E. Coli* possède des curli. Ils se présentent comme étant des appendices ressemblant à des cheveux, minces et en forme de rouleau. Les curli sont codés par deux opérons génétiquement opposés, *csgBAC* et *csgDEF* (**Barnhart, 2006**). Le gène *csgA* code pour la sous-unité fimbriale tandis que le gène *csgB* code une protéine essentielle à la biosynthèse des curli. Le rôle des curli dans la virulence bactérienne n'est pas très bien connu. Cependant, il a été mis en évidence qu'ils peuvent adhérer à plusieurs protéines de l'hôte, incluant la fibronectine et la laminine de la matrice extracellulaire (**Olsen, 1993**). Différentes études effectuées chez les APEC ont permis de déterminer que les curli sont impliqués dans la colonisation, l'invasion et la persistance chez l'hôte. De plus, les curli sont impliqués dans la formation de biofilms (**Barnhart, 2006**).

4.1.4) Autres adhésines :

Des études récentes d'hybridation sur colonies basées sur une collection de 1600 souches d'*Escherichia coli* aviaires isolées d'animaux morts de colibacillose ont mis en évidence que des adhésines F17 et AFa VIII présentes chez d'autres espèces animales comme le bovin ou le mouton, et jusqu'alors non décrites chez les volailles, sont également présentes chez celle-ci (**Stordeur, 2002**).

4.2) Résistance au sérum :

La résistance à l'effet bactéricide du complément dans le sérum, médiée par différentes structures bactériennes comme la capsule, le lipopolysaccharide, des protéines de membrane externe, est associée aux souches APEC, surtout celles isolées de lésions de septicémie (**Stordeur et Mainil, 2002**).

Les souches ExPEC sont souvent associées à la résistance à l'effet bactéricide du sérum. Cette résistance est conférée par structures retrouvées au niveau de la surface bactérienne qui empêchent, notamment, l'interaction des peptides antimicrobiens aux structure de la surface bactérienne et interfère avec la formation, l'attachement et/ou l'activation du complexe d'attaque membranaire (MAC) du complément. Le MAC forme des pores membranaires, ce qui entraîne un déséquilibre du potentiel électrochimique et mène à la mort bactérienne. *E. Coli* résiste à l'effet bactéricide du sérum, par ses LPS, protéines de membrane externe et sa capsule (Taylor, 1988).

4.3) Systèmes de captation du fer :

Ces systèmes fournissent aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication. Le fer est utile à la multiplication des *E. Coli* dans le sang. Or dans l'organisme, le fer libre (fer ferreux, seul utilisable par les bactéries) est rare. Ces micro-organismes ont donc développé des mécanismes leur permettant de détourner ce fer à leur profit. Ainsi, pour capter ce métal, les *Escherichia coli* sécrètent de petites molécules appelées aéro bactéine qui ont une très grande affinité pour le fer. Cette affinité aboutit à la formation d'un complexe fer-aéro bactéine. En même temps. Les bactéries s'équipent à leur surface de protéines transporteuses permettant l'entrée en leur sein de ce complexe l'aéro bactéine est codée par le gène *iuc* (ironuptakechelate ou système de chélation du fer) (Zhao, 2009).

4.4) Toxines :

Contrairement aux *E. Coli* pathogène des mammifères, la production d'exotoxine par les APEC semble être exceptionnelle. Cependant différents travaux ont démontré que les souches aviaires pouvaient bien produire des toxines (connues ou inconnues). La présence d'une toxine thermostable de type STa chez une souche aviaire a été rapportée par (Sekizaki, 1996). Selon (katwa et White, 1992) des récepteurs spécifiques de cette toxine ont été retrouvés au niveau du tractus gastro-intestinal du poulet. Une entérotoxine thermolabile (LT) ainsi qu'une activité vérotoxino gène ont été également identifiées chez des souches aviaires. Les souches APEC (Avian pathogenic *E. Coli*) de sérotype O86 :K61 isolées des oiseaux sauvages sont capable de produit la toxine CLDT (pour cyto-lethal distending toxin). Ces souches possèdent en plus le locus qui inclut le gène de l'intimine et

sont capables de s'attacher intimement aux muqueuses et d'entraîner des lésions de type attachante et effaçante (AIE) décrites chez les démons (mellata, 2003).

4.5) 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, et associé préférentiellement à ces souches et ne se retrouve pas chez des souches d'*E. Coli* isolées de fèces d'animaux sains. La prévalence du gène tsha 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 % font partie des souches les plus virulentes (Dozois, 2000). De plus, des études menées avec un mutant tsh montrent que tsh peut contribuer au développement des lésions dans les aëriens, mais n'est pas nécessaire à la bactérie pour coloniser l'ensemble de l'animal et créer des lésions de péricardite, périhépatite et induire de la septicémie (Stordeur et Mainil, 2002).

Chapitre III : Antigènes d'*Escherichia coli* et Immunité

1-Antigènes d'*Escherichia coli* :

1.1.L'antigène O somatique :

Les antigènes somatiques sont composés plus de 150 de lipopolysaccharide complexes. Actuellement certains laboratoires d'analyses médicales utilisent l'agglutination avec des sérums pour déterminer le sérotype, mais cette technique est limitée par le nombre de plus en plus élevé de sérums à fabriquer, par la présence d'agglutination croisée entre les antigènes O de *E. Coli*, par le passage de la consistance crémeuse de la colonie à une consistance rugueuse ayant pour conséquence l'absence de synthèse de l'antigène O sont regroupés dans le groupe de gènes *rfb* peut être amplifié spécifiquement grâce a un système d'amorces puis, après restriction par l'endonucléase M_{bol}I, un profil noté « R » peut être obtenu par électrophorèse ,correspondant à un sérotype de *E. Coli*(**Sureillane,1997**).

1.2.Antigènes de surface ou d'enveloppe K :

Il existe 3 types d'antigène K désignés par les lettres L, A ou B.

1.2.1) L'antigène L:Est le plus fréquent mais est thermolabile (il est détruit en une demi – heure à 100°C), donc le chauffage provoque une perte du pouvoir antigénique, du pouvoir de fixer les anticorps et du pouvoir de masquer l'antigène O (**Poslet al, 1998**).

1.2.2) L'antigène A :Est rare, c'est un antigène capsulaire (les *Escherichia coli* encapsulés sont relativement fréquents dans les infections urinaires). L'Ag A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire) (**Poslet al, 1998**).

1.2.3) L'antigène B :Est toujours présent chez les *E. Coli* entéro-pathogènes de gastro-entérite infantile. Il a une thermolabilité intermédiaire : après une demi-heure à 100°C il reste toujours de l'antigène O peut entrer en contact avec le sérum par « trouage » de l'enveloppe, la fixation de l'anticorps est toujours positive mais le pouvoir antigénique se perd progressivement (en fonction de la durée de chauffage) (**Posl et al, 1998**).

1.3. Antigène flagellaire H :

Le flagelle bactérien permet la mobilité, on en connaît 60 types. Donc, ils ne sont présents que chez les souches mobiles. Constitué d'une protéine, la flagelline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool. L'antigène H est utilisé pour l'identification des *E. Coli* pathogènes, pour la caractérisation précise des souches peuvent perdre leur mobilité par perte d'expression du flagelle (**Diallo, 2013**).

2-Immunité d'*Escherichia coli* :

E. Coli possède un pouvoir immunogène faible car les animaux guéris peuvent faire une rechute à l'occasion d'un contact avec des fèces contaminées. Il n'y a pas encore de vaccin disponible sur le marché (**Ndiaye, 2010**).

CHAPITRE 4: Etiopathogénie et l'épidémiologie de la Colibacillose chez la volaille

1. Etiopathogénie :

E. coli utilise les plis pour coloniser la muqueuse tapissant les voies aériennes. Une fois la muqueuse traversée, l'endotoxémie va entre autres, attirer les hétérophiles.

La bactérie va engendrer une inflammation, ce qui augmente la perméabilité vasculaire et se traduit par l'infiltration d'un exsudat séro-protéique en dehors du compartiment sanguin.

Dès lors, le fibrinogène du plasma est converti en fibrine par la thrombine.

La présence massive d'hétérophiles et de fibrine va alors générer un exsudat qui devient caséeux, et qui sera visible à l'autopsie.

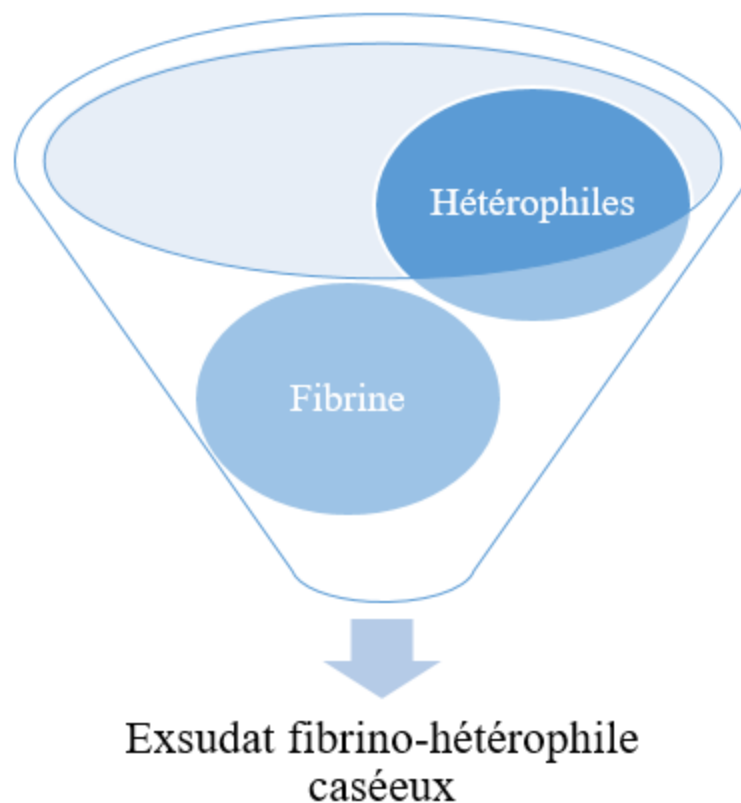


Figure 1 : Formation de l'exsudat fibrino-hétérophilique caséux lors d'une colibacillose (Brugere_Picoux, 2015).

Selon la virulence de la souche, les lésions induites seront plus ou moins visibles :

Tableau 2 : Lésions induites par *E. Coli* selon sa virulence (peu ou très pathogène) - D'après (Brugere-Picoux, 2015).

Souche très pathogène	Peu de lésions	Œdème des séreuses, rate hypertrophiée et congestionnée
Souche peu pathogène	Davantage de lésions	Lésions caséuses étendues

2. Notion d'épidémiologies de la colibacillose chez la volaille :

2.1) Importance :

Les colibacilloses sont fréquentes en pathologie aviaire. Entraînant de la mortalité, des baisses de performances et des saisies à l'abattoir, elles engendrent également des pertes économiques importantes. Les colibacilloses prennent des formes localisées ou bien générales, avec une voie d'entrée plutôt respiratoire. En revanche, il semble à ce jour que la plupart des colibacilles aviaires ne soient pas zoonotiques (Brugere-Picoux, 2015).

2.2) Source d'infection et mode de contamination :

Les sources de contamination sont les malades, les porteurs sains, la litière souillée, les coquilles des œufs souillés. Le plus important réservoir des *E. Coli* aviaires est le tractus digestif de l'animal dont 10% à 15% de la population colibacillaire appartiennent à des sérotypes potentiellement pathogènes (Ledoux, 2003).

Le mode de transmission de la maladie est le plus souvent horizontal et se fait principalement par inhalation de particules de poussières (litières, déjections) infectées. L'ingestion d'eau contaminée peut aussi être responsable de contamination (Ledoux, 2003). Tous les espèces aviaires sont sensibles à *E. Coli* (surtout les poules, dindes et canard).

La colibacillose est extrêmement fréquente. Certains facteurs prédisposent les volailles à la maladie tels que le jeune âge, le stress, le taux élevé d'ammoniac, une baisse de la température, des infections concomitantes. Ces facteurs favorisent l'apparition des colibacilloses (Vounba, 2012).

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

Les jeunes oiseaux sont plus sensibles à la forme septicémique. La cellulite est favorisée par des érosions cutanées et par une litière en mauvais état. L'omphalite est induite par la contamination fécale des œufs infectés brisés, par une salpingite ou une ovarite concomitante chez la mère. Les formes génitales se rencontrent chez les futures reproductrices avant l'entrée en ponte ou sur les adultes avec ou sans signe respiratoire. Les formes respiratoires sont surtout rencontrées sur les jeunes, principalement en surinfection. *E. Coli* est un hôte normal de tractus digestif des volailles ; il est donc disséminé par les fèces des oiseaux malades ou porteurs.

Ainsi, les oiseaux sont constamment exposés aux germes par des malades ou porteurs, des rongeurs, des insectes, des oiseaux sauvages, l'eau, des poussières, l'environnement. *E. Coli*, présent dans les intestins, les voies nasales, sacs aériens ou le tractus génital peut être une source latente d'infection.

La contamination se fait essentiellement par voie aérienne par des aérosols. Les bactéries sont inhalées et contaminent les sacs aériens. Ces derniers peuvent prolonger l'infection aux organes génitaux par contact. Certains *E. Coli* intestinaux provoquent des infections générales après entérite. Les œufs peuvent se contaminer en surface lors du passage dans le cloaque ou dans la litière souillée (**Brugere-Picoux, 2015**).

Chapitre VI : Clinique de colibacillose chez la volaille

1.Symptômes et lésions associées:

1 .1) Symptôme généraux :

Le premier signe clinique rencontré est une chute importante de la consommation alimentaire. Ensuite, l'abattement accompagné et l'hyperthermie (42 à 44°C) apparaissent. Les animaux, les plus atteints, présentent alors des signes de détresse respiratoire (bec ouvert, respiration accélérée et irrégulière) et une diarrhée blanchâtre. Les manifestations cliniques diffèrent suivant l'âge de l'animal (**Stordeur et Mainil, 2002**).

1.2) Symptômes locaux et lésions macroscopiques :

Contrairement à ce qui se passe chez les mammifères, *E. coli* chez les volailles, n'est qu'assez peu impliqué en pathologie digestive mais participe à des syndromes variés évoluant sous forme septicémique ou localisée : maladie respiratoire chronique, omphalite, synovite, salpingite, coligranulomatose(**Stordeur et Mainil, 2002**).

Les colibacilloses peuvent se manifester par plusieurs formes :

1 .2 .1) Forme septicémique ou colisepticémie :

La colisepticémie et les colibacilloses respiratoires représentent une dominante pathologique chez les poulets de chair élevés industriellement. Elles se présentent souvent chez les animaux de 6 à 10 semaines comme une complication d'une infection mycoplasmaïque ou virale (la bronchite infectieuse, la maladie de Gumboro, la maladie de Newcastle) survenue dans les deux ou trois premières semaines de vie, les conditions d'ambiance jouant un rôle déterminant dans l'apparition et la gravité du processus (**Lecoanet, 1992**).

Dans la colisepticémie, *E. coli* est isolée d'une maladie infectieuse intense ressemblant à la fièvre typhoïde et au choléra chez des poulets et des dindes adultes. Les oiseaux affectés sont en bon état général et ont le jabot plein, ce qui indique la nature aiguë de l'infection (**Jeffrey et al, 2002**). On constate une morbidité et une mortalité (subite) variables. Les lésions sont non exsudatives aux stades très précoces. Le foie est hypertrophié, avec quelques zones de dégénérescence. La rate est hypertrophiée avec des foyers de nécrose. On observe des lésions inflammatoires multiples (péricardite,

périhépatite, aerosacculite, pneumonie, infection du sac vitellin, arthrite, ostéomyélite, ténosynovite, etc....) (**Figure 02**).



Figure 02 : Colisepticémie : carcasse rouge, foie dégénéré et aspect luisant(Villate, 2001)

1.2 .2) Forme respiratoire

Colibacillose respiratoire chronique: communément appelée maladie des sacs aériens, elle apparaît principalement chez les poulets âgés de 5 à 12 semaines avec un pic entre 6-9 semaines. Les oiseaux malades sont prostrés, anorexiques et présentent des symptômes respiratoires non spécifiques (éternuements, râles, toux, jetage, larmoiements, sinusite). L'extension de l'infection (aerosacculite) provoque des lésions fibrineuses des séreuses (péricardite et périhépatite) (**Figure 03**).

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



Figure 03: Colibacillose aviaire. Péricardite et périhépatite fibrineuses aiguës (Villate, 2001).

Syndrome de la grosse tête : Ce syndrome a été décrit pour la première fois en 1978 en Afrique du Sud, puis dans de nombreux autres pays et montre de grandes similitudes avec la rhinotrachéite infectieuse de la dinde (Charaf, 2009).

La maladie apparaît vers l'âge de 30 semaines et se traduit par un retard de croissance, un œdème de la tête et de la région périorbitaire et un exsudat caséux dans le tissu conjonctif et au niveau des glandes lacrymales.

1 .2.3) Omphalite :

Les omphalites colibacillaires peuvent être dues à une contamination des œufs en ferme de ponte, à l'entrée du couvoir ou durant l'incubation. Lors de l'éclosion, la bactérie pourra alors infecter le sac vitellin. Les paramètres d'ambiance tels que la température et l'hygrométrie de l'éclosion facilitent également la pénétration d'*E. Coli* dans le sac vitellin en retardant la cicatrisation de l'ombilic. Les opérations de sexage constituent également un facteur de risque. La mortalité peut être élevée.

Les signes cliniques sont :

- Les poussins sont déshydratés, la région cloacale est souillée par des fientes pâteuses, la région cutanée de l'ombilic est souvent humide et enflammée.
- Le sac vitellin n'est pas résorbé. Il est distendu, malodorant, de couleur et consistance anormale.
- La vésicule biliaire est hypertrophiée.

Le diagnostic différentiel comprend les autres bactéries telles que les Staphylocoques, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* ou les entérocoques. (Brugere-Picoux, 2015).

1.2.4) Forme génitales :

Les formes génitales observées chez les poulettes de 4 à 13 semaines ou chez les adultes se traduisent par des chutes de ponte survenant en particulier au 2-3^{ème} mois de ponte, des morts subites ou des diarrhées blanches. L'autopsie révèle des lésions d'ovario-salpingite et de péritonite(**figure 4**). Quand le sac abdominal gauche est infecté par *E. Coli*, de nombreuses femelles développent une salpingite chronique caractérisée par une importante masse caséuse au niveau d'une zone dilatée de l'oviducte à paroi amincie. La taille de la masse caséuse peut augmenter avec le temps. Une péritonite, caractérisée par une mortalité intense, de la fibrine et la présence d'un jaune d'œuf libre dans la cavité abdominale, sont observés parfois suite à la ponte intra abdominale d'un ovule infecté. Les pondeuses infectées meurent fréquemment au cours des 6 premiers mois suivant l'infection; celles qui survivent pondent rarement des œufs. Cette forme génitale de l'infection provoque chez le poussin des mortalités embryonnaires (15 à 20%), des mortalités en coquille (3 à 5%) et des mortinatalités (10 à 20%) (Gross, 1991) (Lecoanet, 1992).



Figure 04). Infection colibacillaire de la grappe ovarienne accompagnée d'une salpingite(Aspect cuit des ovules) (Boissieu et Guerin, 2008).

1.2.5) La Coligranulomatose (maladie de Hjarre) :

C'est une affection du tube digestif des gallinacés se traduisant par la formation des lésions granulomateuses des caeca, du mésentère et du foie de la poule (**Didier, 2001**).

L'expression de cette maladie est retrouvée à l'âge adulte et elle est associée à des mortalités sporadiques. Elle est peu fréquente, mais peut cependant entraîner un taux de mortalité avoisinant 75 % dans certains lots. Les lésions se manifestent par des masses ou nodules blanchâtres dans plusieurs organes (le long des intestins, dans le mésentère, dans le foie), sauf dans la rate, ce qui facilite le diagnostic différentiel avec la tuberculose, ce qui facilite le diagnostic différentiel avec la tuberculose (**Guerin, 2008**).

1.2.6) Arthrites et les synovites :

Les arthrites se localisent, le plus souvent, au niveau du tarse, et s'observent en général chez des poulets ayant survécu à un épisode de colisepticémie ou parfois à la suite d'un traumatisme. La maladie se manifeste par une boiterie.

1.2.7) Mortalités embryonnaires et du jeune poussin :

Cette expression de la colibacillose constitue probablement avec les erreurs d'élevages, la cause la plus importante de mortalités chez les poussins âgés de moins d'une semaine. La contamination de l'œuf et plus précisément de la membrane vitelline, se fait essentiellement lors de la ponte, au passage de celui-ci par le cloaque. Les bactéries alors présente dans les matières fécales de la poule viennent se déposer à la surface de l'œuf. Ensuite, celles-ci pénètrent à travers les membranes coquillières et vont contaminer la membrane vitelline. La possibilité de contamination des œufs à partir de lésion salpingite ou d'ovarite existe mais reste peu fréquente. De 0,5 à 6% des œufs sont contaminés par E. coli dans cette pathologie, on peut considérer que celle-ci est l'agent primaire de l'infection (**Stordeur et Mainil, 2002**).

Les mortalités embryonnaires sont constatées un peu avant l'éclosion : les œufs contaminés présentent une coquille de moindre qualité ; sont plus chauds et leur surface est mouillée (**Jordan et Pattission, 1996**).

Les mortalités se poursuivent encore après l'éclosion et ce, pendant une période de 3 semaines. Les retards d'involution de la vésicule vitelline sont fréquent chez les poussins

contaminés et peuvent parfois s'accompagner de lésions d'omphalite ; ceux qui passent le cap des 3 semaines présentent bien souvent des lésions de péricardite parfois cependant, la seule manifestation de la maladie est la réduction de gaine quotidien moyen (**Jordan et Pattission, 1996**).

1.2.8) Syndrome de la tête enflée ou 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 prédisposant comme les virus (pneumovirus, paramyxovirus, coronavirus) ou des teneurs élevées en ammoniac (**White, 1990**). La morbidité est souvent faible (1%), mais les animaux présentant les symptômes en meurent dans la majorité des cas (**parreira ; 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 entraînant des pertes économiques conséquentes, des 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 même région ainsi qu'au niveau des glandes lacrymales (**Stordeur et Mainil, 2002**).

2.Evolution :

L'évolution peut se faire principalement sous deux formes :

La forme aiguë ou septicémie colibacillaire est dominante des élevages de poulet de chair. Elle se manifeste par des mortalités brutales en 2 jours précédés par un abattement et une anorexie.

La forme chronique (colibacillose respiratoire et génitale) est dominante chez les poulettes de 4 à 13 semaines ou les pondeuses adultes. La colibacillose respiratoire est plus ou moins associée la forme génitale, le taux de mortalité est de 3% par mois (**Stordeur et Mainil, 2002**).

3.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 aerosacculites dues a 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.

Chapitre 6: Traitement et Prophylaxie

1. Traitement :

A l'heure actuelle, le traitement repose encore essentiellement sur l'antibiothérapie. Toutefois, il faut rester prudent quant à l'utilisation des antibiotiques car des études récentes menées sur une collection de 1600 souches d'*E. Coli*, ont montré que le nombre de souches résistantes à divers antibiotiques allait en s'accroissant; il est donc plus que jamais nécessaire de réaliser un antibiogramme avant ou en parallèle à l'antibiothérapie. Des traitements alternatifs aux antibiotiques existent comme l'emploi de l'acide ascorbique qui contribue à intensifier l'activité des phagocytes **(Stordeur et Manil, 2002)**.

Si le choix est possible, il est préférable d'utiliser des molécules comme les quinolones par voie orale (acide nalixidique, acide oxolinique, fluméquine, enrofloxacin), les lincosamides par voie orale, les aminosides par voie parentérale, les bétalactamines par voie orale, les tétracyclines. Il faut cependant faire attention à certains antibiotiques, comme les aminosides, la colistine, la spectinomycine ou la framycétine, qui ne franchissent pas la barrière intestinale donc inactifs lors des colibacilloses systémiques s'ils sont administrés par voie orale **(Boissieu et Guerin, 2008)**. Cependant, ils peuvent être employés lors de colibacilloses respiratoires ou intestinales **(Widmann, 2008)**.

Les molécules les plus utilisées sur le terrain par les cliniciens de la zone d'étude sont les quinolones de deuxième et troisième génération par voie orale (fluméquine, enrofloxacin, norfloxacin), les bétalactamines de synthèse par voie orale, les tétracyclines pures et les aminocyclitols (néomycine). Un traitement adjuvant est pratiqué par les aviculteurs et consiste à déparasiter les volailles et à faire une supplémentation en acides aminés, en minéraux, en oligo-éléments et en vitamines dans l'aliment ou dans l'eau de boisson surtout juste après le traitement anti-infectieux pour diminuer le stress et faciliter la résorption des produits. La chimioprévention est aussi pratiquée par certains aviculteurs en additionnant des antibiotiques dans l'eau de boisson ou dans l'aliment **(Ndiaye, 2010)**.

2-Prophylaxie :

2.1) Prophylaxie sanitaire :

Il s'agit de contrôler les contaminations environnementales en réduisant au maximum les facteurs prédisposant 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.
- L'éradication 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
- La garantie d'animaux indemnes de mycoplasme

2.2) La prophylaxie médicale :

Etant donné l'énorme diversité des souches d'*E. Coli* aviaires en matière de facteurs de virulence, aucun vaccin n'est disponible à l'heure actuelle pour lutter efficacement contre les colibacilloses aviaires.

La prophylaxie médicale peut également faire appel à des vaccins inactifs administrés aux reproducteurs, pour protéger les jeunes poussins avec les anticorps d'origine maternelle (Guerin, 2008).

Chapitre 7 : Les antibiotiques et l'antibiorésistance

1. Antibiotique :

1-1-Définition :

Le terme « antibiotique » fut proposé en 1941 par Waksman pour désigner toute substance chimique produite par un micro-organisme et capable d'inhiber le développement ou de détruire d'autres micro-organismes (**Courvalin et al ;2001**). Par la suite, cette notion s'est étendue aux substances semi-synthétiques ou même synthétiques ayant la même fonction(**Nauciel et Vildé, 2005**). L'antibiotique doit répondre aux critères de la définition de Paul Ehrlich sur la chimiothérapie. Pour ce dernier, une substance chimio-thérapeutique utilisable par voie générale dans le traitement des maladies infectieuses doit être nuisible pour le microorganisme pathogène mais inoffensive pour les cellules de l'hôte. De ce fait, un nombre restreint d'antibiotiques découverts est utilisés en médecine thérapeutique (**Walsh, 2003**). Les antibiotiques sont classés sur la base de leur structure chimique qui conditionne leurs principales propriétés bactériologiques (mode d'action, mécanisme de résistance, spectre), pharmacologiques (mode d'admission, diffusion, élimination) et toxicologiques (effets indésirables et contre-indications) (**Bosgiraud, 2003**). Ils sont également classés selon leurs sites d'action (**Tableau3**).

Tableau 03 : Classification des antibiotiques selon leurs sites d'action. Adapté de (**Prescott et al. (2010)**)

mode d'action	Antibiotiques
Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire	β -lactamines Glycopeptides
Modification de la perméabilité de la membrane cytoplasmique	Polymyxines
Inhibition de la synthèse protéique	Aminosides Macrolides Tétracyclines Chloramphénicol
Inhibition de la synthèse des acides	Rifampicine

nucléiques	Quinolones
Inhibition des voies métaboliques de l'acide folique	Sulfamides Triméthoprim Les principales familles d'antibiotiques présentant un intérêt thérapeutique

Les principales familles d'antibiotiques présentant un intérêt thérapeutique contre les entérobactéries, y compris *E. Coli*, sont les β -lactamines, les aminosides et les quinolones **(Bert et Lambert-Zechovsky, 2000)**.

1-2-Historique :

Un antibiotique est une substance antimicrobienne d'origine biologique, c'est-à-dire produite par un microorganisme (champignon microscopique et bactérie) ou de synthèse chimique qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres microorganismes. Les antibiotiques n'ont pas d'activité contre les virus

Dés 1877, Pasteur et Goubert avaient remarqué que certaines moisissures élaboraient des substances empêchant le développement d'autres champignons. En 1928, Fleming montra que le champignon *Penicillium notatum* produisait une substance bactériostatique agissant sur de nombreux microbes et inhibait le développement des bactéries : il venait de découvrir la pénicilline. De 1939 à 1945, les applications thérapeutiques de la pénicilline et sa préparation industrielle ont été étudiées par Chain et Florey, qui mirent en valeur son antibiotique. À la suite de la découverte de Fleming, de nombreux chercheurs étudièrent les produits de sécrétion d'un grand nombre de champignons, obtenant ainsi des antibiotiques nouveaux. Puis, la constitution chimique des antibiotiques ayant été définie, en remplaçant certains atomes dans les formules par des radicaux plus ou moins complexes. En constituant ainsi les antibiotiques hémi-synthétiques. Ultérieurement, on a obtenu des antibiotiques de synthèse totale.

Enfin, on peut faire fabriquer des antibiotiques par certaines bactéries après modifications génétiques

1.3) Classification des antibiotiques :

1.3.1) Bétalactamines :

Les β -lactamines demeurent à l'heure actuelle les molécules les plus utilisées dans le traitement des infections dues aux entérobactéries. Cette large utilisation est principalement liée à leur faible toxicité, à leur pouvoir bactéricide et à l'extrême diversité de leurs structures (**Philippon, 2008 ; Robin et al, 2012**).

1.3.2) Aminosides :

Les aminosides forment une classe d'antibiotiques qui conserve une place incontournable au sein de l'arsenal antibactérien hospitalier. Leur large spectre d'activité et leur effet bactéricide rapide constituent des atouts majeurs (**Nguyen et Lambert, 2012**). Ces antibiotiques sont utilisés en thérapeutique depuis la découverte de la streptomycine par Waksman et ses collaborateurs en 1944 (**Bryskier, 1999**). Ils sont le plus souvent utilisés en association avec les β -lactamines ou les fluoroquinolones pour leur effet synergique (**Doi et Arakawa, 2007**).

1.3.3) Quinolones :

Depuis la découverte de l'acide nalidixique, en 1962 (**Leshner et al;1962**), les quinolones, antibiotiques synthétiques, ont évolué et sont devenues des agents importants et efficaces dans le traitement des infections bactériennes (**Zhanel et al;2004**). Ce sont des antibiotiques bactéricides très largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Ils sont caractérisés par un large spectre d'activité, une bonne biodisponibilité orale et une bonne diffusion dans les tissus (**Hooper et Rubinstein, 2003**).

2.Résistance bactérienne :

2.1) Définition :

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. On effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression <<résistance bactérienne aux antibiotiques>>, qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques, cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employés se fondent sur les critères microbiologiques (résistance in vitro) et sur les critères cliniques (résistance in vivo). Selon la définition microbiologique de terme, une souche est

dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylo-génétiquement liées.

Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivés dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place **(Muylaert, Mainil, 2012)**.

2.2) Types de résistance aux antibiotiques :

2.2.1) Résistance naturelle (intrinsèque) :

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribuer à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut *être* due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à sa faible affinité pour l'antibiotique ou encore à son absence. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. Elle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) **(Lazoul, Rahi, 2014)**.

2.2.2) Résistance acquise (extrinsèque) :

Il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce.

Sur le plan génétique, la résistance peut être acquise par deux voies totalement distinctes, soit des mutations affectant des gènes présents sur le chromosome, soit l'acquisition de gènes étrangers. Ces gènes peuvent provenir du chromosome d'espèces

différentes ou être véhiculés par des éléments génétiques mobiles pouvant être transférés d'une bactérie à l'autre **(Lozniewskai et Rabaud, 2010); (Souna, 2011)**.

2.2.2.1) Résistances chromosomiques :

Elles sont liées à des mutations de l'ADN chromosomique lors de la réplication. La mutation peut porter sur un point quelconque du métabolisme bactérien. Si elle vient à modifier le site d'action de l'antibiotique, ce dernier devient inactif. On parle alors de mutant résistant. Ces mutations chromosomiques sont rares spontanées (se produisent en l'absence de l'antibiotique), spécifiques, héréditaires et réversibles **(Pebret, 2003)**.

2.2.2.2) Résistance par l'acquisition des gènes :

C'est le mécanisme le plus important, les gènes acquis par la bactérie peuvent être un plasmide ou un transposon. Ces éléments génétiques rendent la bactérie résistante à l'antibiotique par la synthèse de nouvelles protéines. Ces protéines interviennent dans la résistance bactérienne en modifiant la perméabilité à un antibiotique ou en l'inactivant, c'est le cas des enzymes type bêta Lactamase.

La résistance par acquisition de gènes est fréquente, elle peut concerner plusieurs antibiotiques à la fois contrairement à la mutation et elle est transférable d'une bactérie à une autre. Il existe quelques antibiotiques pour lesquels le seul mécanisme de résistance est la mutation, alors qu'aucune résistance par acquisition de gènes n'a été retrouvée : les Rifamycines, les Quinolones, Polypeptides et les Furanes **(Mahfoud, 2015)**.

2.3) Mécanismes de la résistance bactérienne :

E. Coli a plusieurs mécanismes de résistance représentés dans la **figure 05** :

Mécanismes de résistance à l'antibiotique

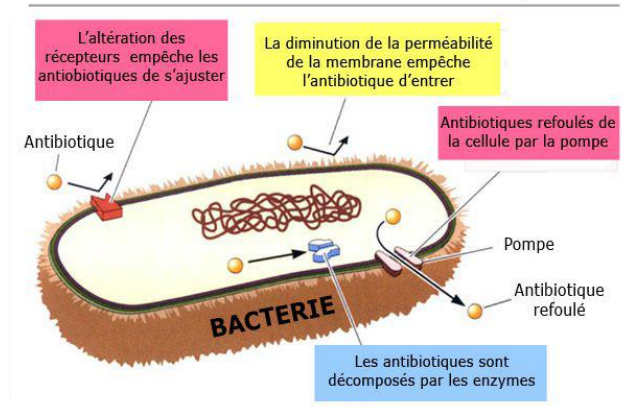


Figure 05 : Les différents mécanismes de la résistance d'une bactérie aux antibiotiques (Haubruge, 2008).

2.3.1) Inactivation ou dégradation des antibiotiques par des enzymes :

Ce mécanisme est basé sur la destruction d'un antibiotique avant même que celui-ci pénètre la cellule. Il se produit via la sécrétion par la bactérie d'une enzyme capable de détruire des liens chimiques nécessaires à l'intégrité fonctionnelle du médicament. C'est donc une stratégie offensive par laquelle la bactérie inactive l'antibiotique. Les bêta-Lactamases sont un exemple d'enzymes produites par les bactéries qui inactivent les B-Lactamines telles les pénicillines et les céphalosporines. D'autres catégories d'enzymes inactivent plus précisément les aminosides ou d'autres antibiotiques, incluant le chloramphénicol et la fosfomycine (Véronique, 2003).

2.3.2) Diminution de perméabilité :

Tout changement dans la composition de l'enveloppe cellulaire, qui fait obstacle à l'absorption d'un antibiotique donné, aura pour résultat une augmentation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ou l'apparition d'un haut degré de résistance. La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par diminution de l'entrée de l'antibiotique sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie. Une altération des porines dans la paroi des bactéries à gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action (Courvalin et Leclercq et Bingen, 2006).

2.3.3) Acquisition d'un déterminant de résistance exogène :

Des gènes spécifiant une résistance à un ou à plusieurs antibiotiques peuvent être acquises par transformation, conjugaison, transposition et transduction. Dans certains cas, une <<cassette génétique>> codant pour la résistance aux antibiotiques s'insère par recombinaison localisée dans une séquence spécifique de l'ADN (intégron). Un intégron comprend le site d'insertion et aussi l'intégrase (recombinase) requise (**Courvalin et Leclercq et Bingen, 2006**).

2.3.4) Pompes (transporteurs) à efflux :

L'antibiotique ne peut atteindre son site d'action par pompage actif de l'antibiotique à l'extérieur de la bactérie (efflux). Les transporteurs d'efflux de plusieurs médicaments sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de nombreux agents antibactériens. Ces pompes ont besoin d'énergie. L'exposition aux antibiotiques favorise une surexpression par mutation de transporteurs, entraînant une hausse de la résistance bactérienne. Il est également possible qu'une résistance par efflux apparaisse à cause de l'exposition à un antibiotique d'une autre classe (**Sylvie C. (2009)**).

2.3.5) Résistance inductible :

Certains antibiotiques quand leur concentration dépasse un certain minimum peuvent induire la résistance dans une cellule bactérienne. Par exemple, chez des bactéries à Gram positives (dont les *Staphylocoques*, la présence de chloramphénicol induit le chloramphénicol acétyltransférase, une enzyme qui catalyse l'acétylation (d'où l'inactivation de l'antibiotique) (**Courvalin et Leclercq et Bingen, 2006**).

2.3.6) Altération (ou modification) des sites de liaison :

Phénomène engendré par des chromosomes ou des plasmides, ce mécanisme de résistance produit une baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action. Voici quelques exemples de ce mécanisme de résistance

3.Antibiogramme :

L'antibiogramme est une méthode de travail microbiologique, utilisant un milieu gélose spécifique en boîte de pétri et des disques imprégnés d'antibiotiques à des concentrations déterminés. Cette méthode permet d'évaluer la sensibilité d'une bactérie pathogène vis-à-vis d'antibiotiques choisis en fonction des indications cliniques fournies et de la prévalence de la résistance acquise. En mesurant les diamètres des zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques et en consultant les tableaux << de concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative >> pour des familles ou des genres bactériens déterminés, on peut savoir si, pour ces antibiotiques testés, une souche bactérienne est sensible, ou résistante. La mesure du diamètre d'inhibition représente la valeur de la CMI de l'antibiotique **(Delarras, 2014)**.

Partie

Expérimentale

Partie expérimentale

1. Problématique :

La colibacillose aviaire est l'une des maladies les plus fréquentes en élevages de volailles, avec une recrudescence des cas dans les dernières années. Cette évolution entraîne une utilisation importante d'antibiotique, générant des risques d'antibiorésistance. L'usage abusif et trop souvent incorrect des antibiotiques a contribué au développement et à la dissémination de bactéries qui sont devenues résistantes aux antibiotiques.

2. Objectif de l'étude :

L'objectif de l'étude est d'évaluer l'antibiorésistance des *E. Coli* responsable des pathologies chez poulet de chair dans des deux Daïras Azazga et Mekla vis-à-vis 14 molécules d'antibiotiques parmi les plus utilisées en aviculture.

3. Région et période de l'étude :

L'étude a été réalisée au niveau de deux Daïras Mekla et Azazga de la Wilaya de Tizi Ouzou. Des cabinets vétérinaires qui ont acceptés de soutenir ce travail sont au nombre de deux, une au niveau de Mekla et l'autre au niveau d'Azazga. Ils reçoivent les cas cliniques et procèdent aux autopsies des volailles. Les échantillons ont été collectés entre Janvier et Mars 2019 puis analysés au laboratoire.

3.1) Présentation de la Daïra de Mekla :

La Daïra de Mekla est une circonscription administrative Algérienne située dans la Wilaya de Tizi Ouzou.

La Daïra de Mekla est composée de 3 communes :

1. Ait khellili
2. Mekla
3. Souamaa

La population totale de la daïra est de 45818 Habitants pour une superficie de 129,25 km² (consulté le 12/02/2012).

3.2) Présentation de la daïra d'Azazga :

La Daïra d'Azazga est circonscription administrative de la wilaya de Tizi-Ouzou

La daïra comprend les communes suivantes :

1. Azazga
2. Freha
3. Ifigha
4. Yakouren
5. Zekri

La population totale de la daïra est de 83560 habitants pour superficie de la 360,2725 km² (consulté le 12/02/2012).

4. Matériel et méthodes :

4.1) Matériel :

Tout le matériel nécessaire au bon déroulement de ce travail était disponible au niveau du cabinet vétérinaire de Dr NAFA. R (Chaib-Mekla).

Matériel utilisé pour la bactériologie :

- Des écouvillons, gants en latex, Bistouri, ciseaux et pinces métallique
- Disques oxydase
- Galeries biochimiques Api 20E (BioMérieux, France) pour l'identification des entérobactéries.
- Réactifs nécessaire pour les galeries api : Réactif de la TDA, réactif de Kovac, VP1 + VP2.
- Huile de paraffine (Vaseline).
- Logiciel d'identification des souches bactériennes.
- Réfrigérateur
- Etuve à 37°C, autoclave
- Microscope optique, lame et lamelle
- Bec bunsen
- Boîtes de pétri stériles, pipettes pasteur, tubes à essai, anse de platine
- Gélose Muller-Hinton,



Figure 06: Matériels utilisé pour la bactériologie.



Figure 07: Bec Bunsen et anse de platine (photo personnelle).



Figure 08: Pipette Pasteur automatique (photo personnelle).

Matériel de prélèvement :

- Poulets de chair (2 poulets par 1 élevage), bistouri, pince, Gants stériles, Écouvillons stériles, Tubes de bouillon nutritif, Eau de javel et Palliasse.

4.2) Méthode :

4.2.1) Prélèvement :

4.2.1.1) Autopsie :

Avant chaque autopsie, un examen clinique est réalisé afin de déceler certains élément de suspicion de la colibacillose comme : l'hétérogénéité des animaux, le retard de croissance, l'abattement et l'anorexie, la diarrhée blanchâtre et le ballonnement de l'abdomen. L'autopsie a été réalisée selon la procédure classique d'autopsie des volailles. Brièvement, elle a consisté en examen externe des cadavres, incision cutanée médiane, dépouillement, ouverture des cavités (abdominale et thoracique), puis l'éviscération (**Villate, 2001**). Ces étapes ont été suivies par l'examen macroscopique proprement dit des tissus et organes afin de détecter les éventuelles modifications lésionnelles (aerosacculite, péricardite, périhépatite, congestion de la rate, péritonite).



Figure 09 : Autopsie d'un poussin cadavre (photo personnelle).

4.2.1.2) Décongélation des prélèvements :

Pour éviter le choc thermique, la veille des analyses, les échantillons sont transférés du congélateur (-20°C) au réfrigérateur (+4°C) puis placés à la température ambiante sur la paillasse de la salle de bactériologie au moins deux heures de temps avant leur utilisation.

4.2.1.3) Découpe des organes :

La surface des organes est flambée puis, ils sont découpés en petits morceaux à l'aide d'une paire de bistouri et une pince stériles.



Figure 10: Découpe des organes (photo personnelle).

4.2.1.4) Isolement des germes :

L'isolement des germes a été fait par ensemencement des échantillons dans des boîtes de pétri contenant de la gélose de Hektoen. Ce milieu de culture a l'avantage de faire pousser toutes les entérobactéries notamment les *E. Coli*.

Les différentes boîtes ensemencées sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures. La lecture est faite après 24 heures. Les colonies apparues ont été observées sur le plan macroscopique puis une colonie rose saumon a été choisie et cultivée dans des tubes contenant de la gélose nutritive. Ces tubes ont été ensuite incubés à 37°C dans l'étuve pendant 24 heures.

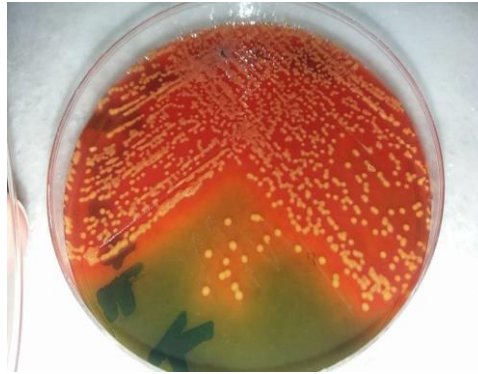


Figure 11: Colonie d'*E. Coli* sur gélose Hektoen.

4.2.1.5) Identification des germe :

Chaque culture pure a fait l'objet d'une coloration de Gram. Les bacilles à Gram négatif sont ensuite soumis au test d'oxydase. Ce test est réalisé avec des disques d'oxydase. Le principe consiste à humidifier les disques avec de l'eau distillée stérile et d'appliquer sur ces disques quelques colonies bactériennes à l'aide de l'anse de platine. Ainsi on obtient une coloration violette si la réaction est positive. Dans le cas contraire le disque reste inchangé.

Les bacilles à Gram négatif et oxydase positive sont reconnus comme des non entérobactéries, donc écartés pour la suite des investigations.

Les bacilles à Gram négatif et oxydase négatif (présumés Entérobactéries) ont été soumis à d'autres tests biochimiques permettant la recherche des caractères de famille, puis ceux spécifiques à *E.Coli*.

Pour tous les prélèvements, l'identification a été faite à l'aide d'une galerie API 20 E.

4.2.2) Antibiogramme :

L'antibiogramme a permis de déterminer in vitro la sensibilité des souches d'*Escherichia coli* identifiées vis-à-vis de 14 antibiotiques choisis parmi les plus utilisés dans les élevages avicoles en Algérie.

4.2.2.1) Principe :

L'antibiogramme est la méthode analytique qui permet de définir in vitro l'antibiotique le plus actif sur un germe. La méthode de diffusion en gélose est celle utilisée pour cette étude. Selon les normes NCCLS (National comité for clinical laboratory standards) recommandées par l'OMS.

Cette méthode consiste à déterminer le diamètre du cercle qui correspond à l'aire inhibitrice complète de la croissance bactérienne visible, par les antibiotiques testés.

En les comparants aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture ; on peut classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante.

Milieu :

La gélose Muller Hinton est la gélose de choix pour la réalisation de l'antibiogramme standard.



Figure 12 : Gélose Muller Hinton (photo personnelle).

Inoculum :

A partir d'une culture pur de 18h sur milieu d'isolement ; racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %

Bien homogénéiser la suspension bactérienne ; sa densité optique doit être équivalente à 0,5 Mc Farland.

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant ; soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort, l'ensemencement doit se faire dans 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

Ensemencement :

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. L'essorer en le pressant fermement en le tournant sur la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60 degrés à chaque fois, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.



Figure 13: Ensemencement de la gélose.

Application des disques d'antibiotiques :

Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90mm de diamètre, presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application, une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé. Les boîtes sont incubées pendant 18 heures à 37 degrés.

Lecture :

Pour la lecture, il faut mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.

Comparer le diamètre obtenu à partir de chaque disque d'antibiotiques à celui de la charte fournie par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (Annexe 1) pour déterminer si l'espèce bactérienne testée est soit résistante ou de sensibilité intermédiaire ou sensible à l'antibiotique.

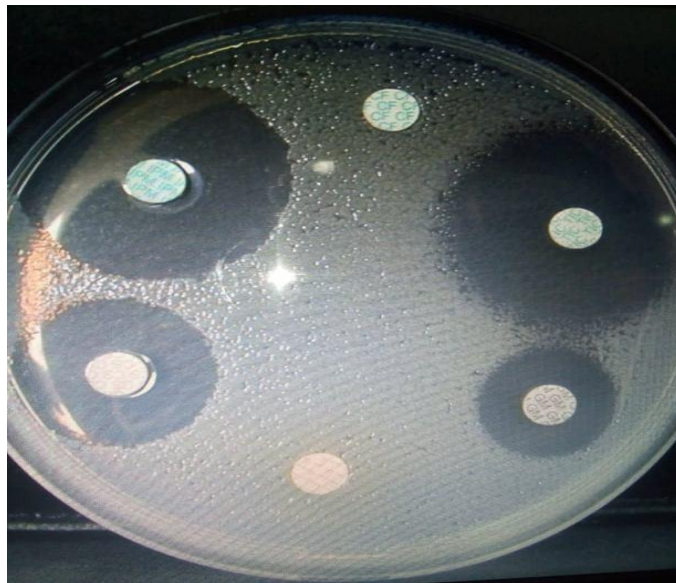


Figure 14 : Exemple d'antibiogramme sur gélose Mueller-Hinton

4.2.2.2) Choix des antibiotiques :

Au total 14 antibiotiques ont été testés, parmi les plus utilisés en élevage aviaire, et selon les listes d'antibiotiques recommandées pour la surveillance des pathogènes

vétérinaires, ce sont : Acide fusidique, Sulfaméthazole+triméthoprime, Oxytétracycline, Erythromycine, Spiramycine, lincomycine, doxycycline, ampicilline, amoxicilline, colistine, céfotaxime, enrofloxacin, pristinamycine, pénicilline.

5) Résultat :

Au total, 74 prélèvements ont été réalisés à partir de différents organes (cœur, foie, poumon, rein, trachée et la rate), provenant de volailles suspectés de colibacillose.

Sur les 74 prélèvements suspects, 59 ont présenté une culture positive envers *Escherichia coli*, ce qui représente 79,72% des prélèvements pathologiques dans des deux Daïras.

5.1) Fréquence des différentes lésions retrouvées :

Les prélèvements ont été effectués sur le foie, le cœur, les poumons et le sac vitellin. Ils proviennent de cadavres de poulets et de poussins autopsiés présentant des lésions caractéristiques des atteintes rencontrées lors des septicémies colibacillaires, à savoir la congestion généralisée, la congestion et hypertrophie de la rate, les lésions de périhépatite, de péricardite et d'aérosacculite fibrineuses.

Tableau 4: Fréquence des différentes lésions de colibacillose rencontrées lors de l'examen nécropsique.

Lésions	Pourcentages
Périhépatite	76,27 %
Péricardite	50,84 %
Aérosacculite fibrineuse	84,74 %
Congestion des intestins	25,42 %
Péritonite	42,37 %

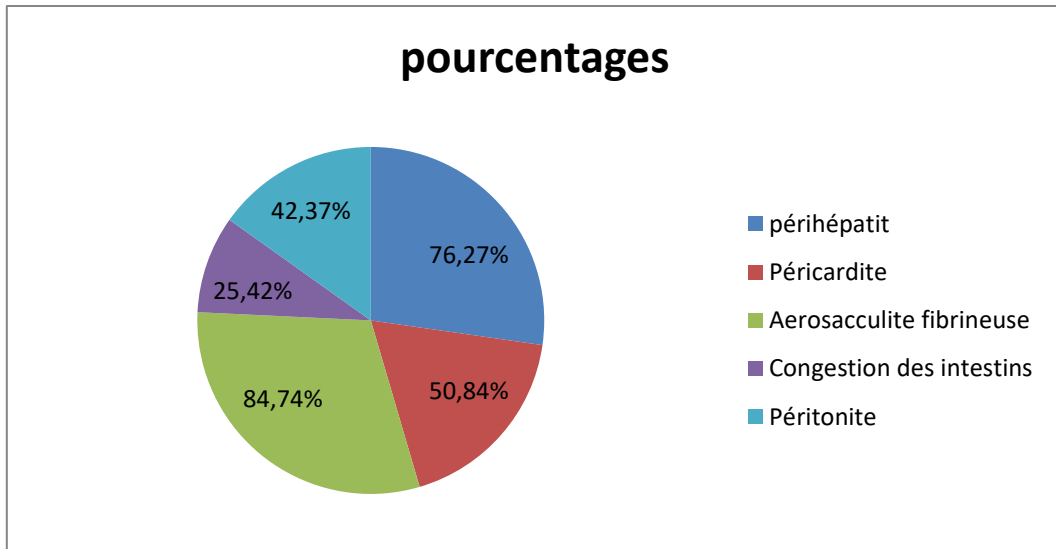


Figure 15: Représentation des différentes fréquences des lésions retrouvées.

La péri hépatite, la péricardite et aerosacculite fibrineuse sont les lésions les plus fréquemment retrouvées dans notre étude.



Figure 16: Péricardite et dépôt de fibrine sur le foie (aspect général da la colibacillose).
(Photo personnelle).

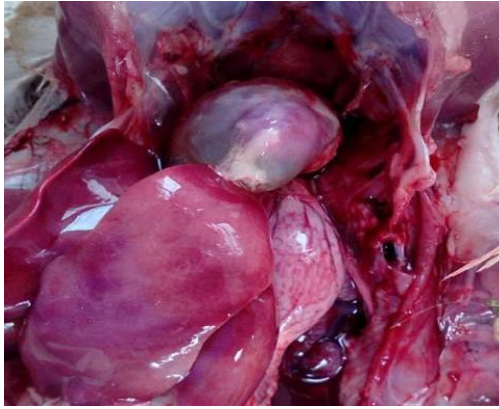


Figure 17 : Aspect d'une péricardite (photo personnelle).



Figure 18: Congestion de l'intestin (photo personnelle).

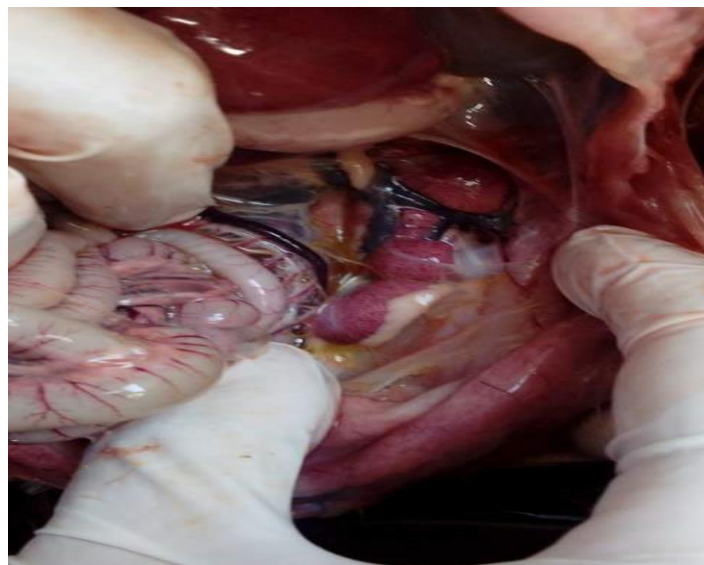


Figure 19 : Néphrite (photo personnelle).



Figures 20,21: Dégénérescence du foie, péricardite et péritonite.

5.2) Examen bactériologique :

A partir de 74 prélèvements réalisés, 59 ont présenté une culture positive envers *Escherichia coli* sont identifiés grâce à leur morphologie et biochimique.

Sur gélose Hecktoen, les colonies d'*E. Coli* sont apparues rondes, bombées, à bords nets, de 2 à 3 mm de diamètre, de couleur jaune saumon (lactose+), comme le montre la photo ci-dessous.

5.3 Résultat d'antibiogramme :

5.3.1 Daïra de Mekla :

Toutes les souches isolées sont résistantes à Oxytétracycline et Spiramycine 100 %, 96,10 % des souches le sont à Lincomycine, la résistance aux Acide Fusidique est de l'ordre de 90,10 %, Pénicilline connaît un taux de résistance de 88,21 % alors que la résistance Sulphaméthazole-Triméthoprime 82,75 % et la résistance au Ampicilline est de 71,50 %, Érythromycine est de 75,50 % et suivie par l'Amoxicilline est de 62,17 %. Les molécules connaissant de taux moyen de résistance sont : Doxycycline avec 39,93 %, suivie par Colistine avec 30,75 % de taux résistance. Les molécules à taux faible de résistance sont : Enrofloxacin avec 5,10 % et Céfotaxime avec 3,09 % de taux de résistance (tableau 5).

Tableau 5: Pourcentage de résistance et de sensibilité des souches d'E. Coli testées à différentes molécules d'antibiotiques de la Daïra de Mekla.

Antibiotiques	Résistant %	Intermédiaire %	Sensible %
Acide Fusidique	90,10	0	9,9
Amoxicilline	62,17	9,15	28,68
Ampicilline	71,50	1,2	27,3
Céfotaxime	3,09	1,8	95,11
Colistine	30,75	11,18	58,07
Doxycycline	39,93	0	60,06
Enrofloxacin	5,10	2,10	92,80
Erythromycine	75,50	6,3	18,20
Lincomycine	96,10	0	3,89
Oxytétracycline	100	0	0
Pénicilline	88,21	2,09	9,70
Pristinamycine	60,96	7,29	23,75
Spiramycine	100	0	0
Sulpha/Triméthoprime	82,75	0	17,24

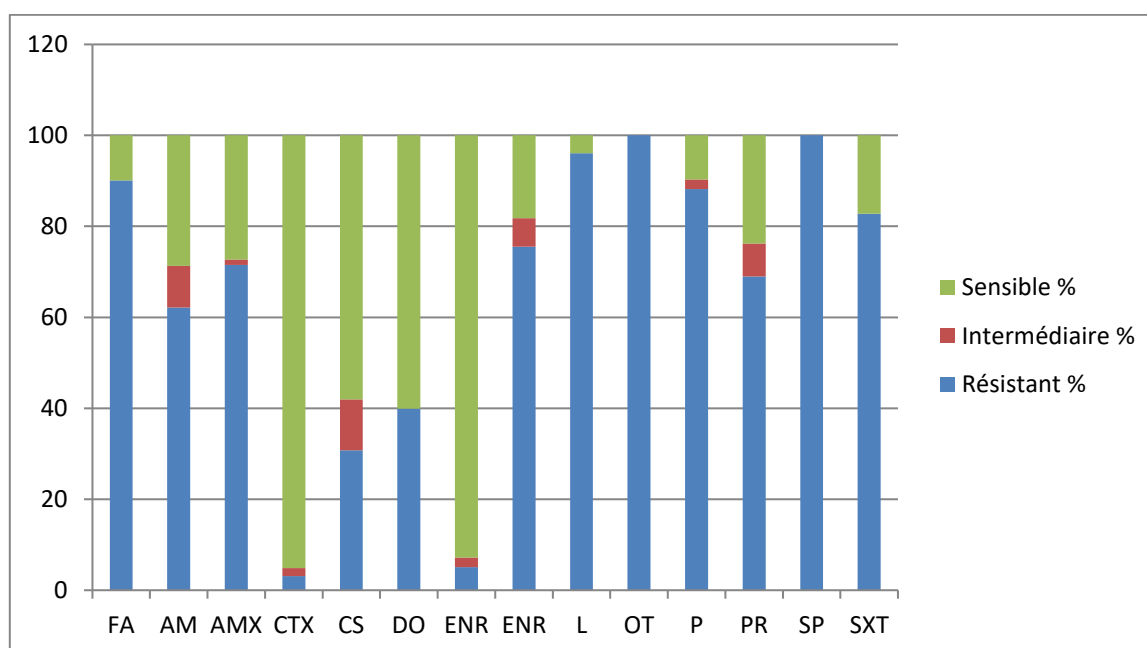


Figure 22 : Résultats des antibiogrammes dans la daïra de Mekla

5.3.2. Daïra d'Azazga :

Toutes les souches isolées sont résistantes à Oxytétracycline 100 % et Spiramycine avec 94,82 %, 93,10 % des souches le sont à Acide Fusidique, la résistance aux Lincomycine est de l'ordre de 92,10 %, Pénicilline connaît un taux de résistance de 81,21 % alors que la résistance Sulphaméthazole-Triméthoprime 82,75 % et la résistance au Érythromycine est de 79,31 % et suivie par l'Amoxicilline est de 72,41 %, pristinamycine avec 68,96 % et Ampicilline avec 68,06 %. Les molécules connaissant de taux moyen de résistance sont : Doxycycline avec 30,93 %, suivie par Colistine avec 44,42 % de taux résistance. Les molécules à taux faible de résistance sont : Enrofloxacin avec 4,69 % et Céfotaxime avec 2,89 % de taux de résistance (tableau 6).

Tableau 6 : Pourcentage de résistance et de sensibilité des souches d'E. Coli testées à différentes molécules d'antibiotiques de la Daïra d'Azazga.

Antibiotiques	Résistant %	Intermédiaire %	Sensible %
Acide Fusidique	90,10	0	97,10
Ampicilline	68,06	1,9	30,04
Amoxicilline	72,41	7,3	20,29
Céfotaxime	2,89	0	97,10
Colistine	44,42	15,38	40,02
Doxycycline	30,93	9	60,06
Enrofloxacin	4,69	2,21	93,10
Erythromycine	79,31	5,01	15,58
Lincomycine	92,10	1,01	6,79
Oxytétracycline	100	0	0
Pénicilline	81,21	5,19	13,60
Pristinamycine	68,96	10	21,04
Spiramycine	94,82	0	5,18
Sulpha /Triméthoprime	82,75	2,01	15,14

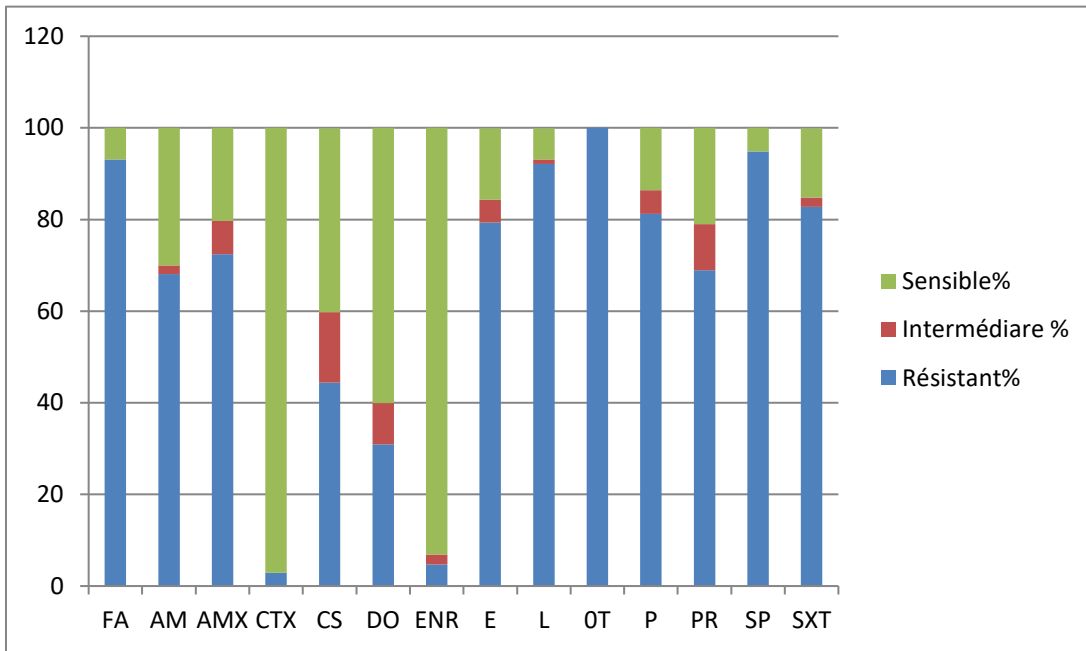


Figure23: Résultats des antibiogrammes dans la Daïra d'Azazga

6. Discussion


Les taux de résistance enregistrés, ont montré des niveaux élevés pour l'oxytétracycline, Spiramycine, lincomycine, acide fusidique, pénicilline et association sulphamethazole-triméthoprimine et érythromycine. Ces niveaux élevés de l'antibiorésistance peuvent être expliqués par utilisation abusives et non raisonnée de ces molécules dans la prévention des maladies aviaires (**Wegener, 2003**). Les faibles taux de résistance ont été enregistrés pour l'enrofloxacin et céfotaxime.

Bien que la résistance bactérienne à l'oxytétracycline connaît des taux élevés dans divers pays, la quasi-totalité de résistance des souches d'*E. Coli* obtenue cette étude est très inquiétante dans la mesure où cet antibiotique ne serait d'aucune utilité thérapeutique contre les colibacilloses et fort probablement contre d'autres maladies aviaires. Étant donné son spectre large et sa bonne diffusion tissulaire, l'oxytétracycline a été utilisée depuis les années 70 à des fins thérapeutiques, préventives voire zootechniques (facteur de croissance et antistress). Cette molécule était administrée systématiquement après les vaccinations. Elle était fréquemment sous dosée et souvent présentée en association avec les vitamines. Les nouvelles présentations de l'OT pure avec des concentrations en principe actif de 40%, 50% et 100% sont mises à la disposition de séleveur, parfois sans prescriptions vétérinaire, pour être administrés lors du changement entre l'aliment de démarrage et l'aliment de croissance. Elles sont aussi utilisées lors de l'observation de troubles digestives ou lors de manifestation de diarrhées (**Rahmatallah et al/2016**).

7. Conclusion :

E. Coli connaît de plus en plus une émergence importante de résistance aux antibiotiques ce qui est à l'origine des échecs thérapeutiques en aviculture. Selon le resapath les taux de résistances d'*Escherichia coli* évolue avec des fréquences semblables sur l'échelle mondiale ce qui est confirmé par les résultats de notre étude qui montre que la résistance des *Escherichia coli* dans les deux régions Mekla et Azazga est presque identique pour toute les familles des antibiotiques testés malgré la localisation géographique différente des deux Daïras.

Annexe(1) :

	Disk diffusion method for antibioresistance			Préparé par : Jahanbakhsh Seyedehameneh
	No du document : ECL-PROC-055	Version 1 2010.11.25	Page : 79/107	Vérifié par : Clarisse Desautels

Zone Diameter Interpretive Chart					
No	Antimicrobial Agent	Disk Potency	Resistant	Intermediate	Susceptible
1	Amikacin (AN)	30µg	≤14	15-16	≥17
2	Amoxicillin/Clavulanic acid (AMC)	30µg	≤13	14-17	≥18
3	Ampicillin (AM)	10µg	≤13	14-16	≥17
4	Cefoxitin (FOX)	30µg	≤14	15-17	≥18
5	Ceftriaxone (CRO)	30µg	≤13	14-20	≥21
6	Chloramphenicol (C)	30µg	≤12	13-17	≥18
7	Ciprofloxacin (CIP)	5µg	≤15	16-20	≥21
8	Gentamicin (GM)	10µg	≤12	13-14	≥15
9	Kanamycin (K)	30µg	≤13	14-17	≥18
10	Nalidixic acid (NA)	30µg	≤13	14-18	≥19
11	Streptomycin (S)	10µg	≤11	12-14	≥15
12	Sulfisoxazole (G)	250µg	≤12	13-16	≥17
13	Tetracycline (TE)	30µg	≤14	15-18	≥19
14	Trimethoprim-Sulphamethoxazole (SXT)	23.75µg	≤10	11-15	≥16
15	Ceftiofur (XNL)	30µg	≤17	18-20	≥21

