

UNIVERSITE SAAD DAHLAB de Blida
Faculté des Sciences Agrovétérinaires
Département des Sciences Vétérinaires

MEMOIRE DE MAGISTERE

Spécialité : Microbiologie médicale vétérinaire

CARACTERISATION DES SOUCHES
D' Escherichia coli
ISOLEES DES LAPINS SEVRÉS DANS
LA WILAYA DE BLIDA

Par
Rym EZZEROUG

Devant le jury composé de :

K. BENACHOUR	MCA, Univ. S. Dahleb de Blida	Présidente
M. BACHIR Pacha	MCA, Univ. S. Dahleb de Blida	Examineur
A. BERBER	MCA, Univ. S. Dahleb de Blida	Examineur
A. BOUYOUCHEF	Professeur, Univ. S. Dahleb de Blida	Promoteur

Blida, Juillet 2011

RESUME

La présente étude a pour objectif d'évaluer l'implication des *Escherichia coli* dans les pathologies digestives et de tester leurs sensibilités aux antibiotiques, dans les élevages de lapins de la Wilaya de Blida.

Une enquête par questionnaire a été menée et a révélé un taux de 90,48% pour le syndrome diarrhéique dans nos élevages.

Sur un échantillon de 97 lapins, le pourcentage des diarrhées des trois élevages suivis varie entre 14 et 17% et celui des mortalités est de 23,04% pour un total de 230 lapins sevrés.

180 prélèvements fécaux issus de trois élevages utilisant respectivement dans l'eau de boisson: un désinfectant de bâtiment ; du vinaigre et un anti-stress, ont été utilisés pour l'examen bactériologique. Les dénombrements colibacillaires ont été différents : les valeurs des quatre semaines de suivi pour le premier site, présentent une différence non significative ($P > 0,05$), vs celles du deuxième et du troisième présentant une différence hautement significative ($P < 0,001$).

De plus, sur un total de 50 souches d'*E.coli* isolées, 10% ont révélé une résistance à l'Ampicilline vs 90% ayant une résistance intermédiaire. 96% des souches sont sensibles à la Gentamicine. 92% sont sensibles à l'Amoxicilline vs 6% ayant une sensibilité intermédiaire et 2 % résistantes.

Mots clés: *Escherichia coli*, lapin, sevrage, troubles digestifs.

SUMMARY

This study aims to evaluate the involvement of *Escherichia coli* in digestive diseases and to test their sensitivities to antibiotics in farmed rabbits in the Wilaya of Blida.

A questionnaire survey was conducted and revealed a rate of 90.48% for the diarrhea syndrome in our farms.

In a sample of 97 rabbits, the percentage of diarrhea followed by three farms between 14 and 17% and the mortality is 23.04% for a total of 230 weaned rabbits

180 faecal samples from three farms using respectively the drinking water: a building disinfectant; vinegar and an anti-stress, were used for bacteriological examination.

Colibacillaires counts were different: the values of the four week follow-up to the first site, show an insignificant difference ($P > 0.05$), vs. those of the second and third with a highly significant difference ($P < 0.001$).

In addition, a total of 50 strains of *E. coli* isolated, 10% showed resistance to Ampicillin vs 90% with intermediate resistance. 96% of strains were sensitive to gentamicin. 92% are susceptible to amoxicillin vs 6% with a sensitivity intermediate and 2% resistant.

Keywords: *Escherichia coli*, rabbit, weaning, digestive disorders.

ملخص

تهدف هذه الدراسة لتقييم مدى تفشي امراض الجهاز الهضمي الناتجة عن القولونية في مزارعنا لولاية البليدة. بداية، أفاد استطلاع الرأي نسبة 90،48 ٪ لمتلازمة الإسهال في مزارعنا. وفي الخطوة الثانية ، فإن النسبة المئوية للإسهال في ثلاث مزارع تتراوح بين 14 و 17 ٪ تليها نسبة 23،04 ٪ من القتلى لعينة 97 أرنب من مجموعة 230 أرنب مفطوم. أما الفحوص البكتريولوجية ل 180 عينة من البراز لثلاث مزارع تستخدم كل منها على التوالي في مياه الشرب: مطهر إسطلب ، الخل ومكافح التوتّر فان احصاء كولي باسيلار اظهر قيم مختلفة. خلال متابعة الموقع الأول فان قيم أربعة أسابيع بينت وجود فرق ضئيل ($p < 0.05$) ، عكس ذلك من متابعة المزرعة الثانية و الثالثة اظهرت فرق كبيرا جدا ($p < 0.001$). في الخطوة الأخيرة ، أظهرت 10 ٪ من مجموع 50 سلالة ايشيريشيا كولي مقاومة للأمبيسيلين مقابل 90 ٪ ذات مقاومة متوسطة . اما 96 ٪ من السلالات كانت حساسة للجنتاميسين و 92 ٪ من السلالات كانت حساسة للأموكسيسيلين مقابل 2 ٪ ذات مقاومة متوسطة .

تأمل كل الباحثين : القولونية ، أرنب ، الفطام ، اضطرابات في الجهاز الهضمي.

REMERCIEMENTS

A ALLAH, l'immense qui m'a aidé et protégé; grâce à sa bénédiction que j'en suis là aujourd'hui.

A Madame Benachour K

Maître de Conférences à l'Université Saad-Dahleb de Blida qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire. Remerciements respectueux.

A Monsieur Bachir Pacha M

Maître de Conférences à l'Université Saad-Dahleb de Blida qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de mémoire .Hommages respectueux.

A Monsieur Berber A

Maître de Conférences à l'Université Saad-Dahleb de Blida pour avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie de notre jury de mémoire. Sincères remerciements.

A Monsieur Bouyoucef A

Professeur à l'Université Saad-Dahleb de Blida, pour avoir encadré ce travail et pour sa patience au cours de ces années.

A Monsieur Licois D,

Biologiste Chercheur en cuniculture à l'INRA-Toulouse, pour m'avoir dirigé au cours de ce travail, pour tous les conseils et articles que j'ai reçus. Sincères remerciements et profond respect.

A Feknous Nawel et Messkouri Ibtissem

A toutes nos sorties, nos secrets, nos rires et nos larmes ; sans vous ces études n'auraient pas eu la même saveur. Je serai toujours reconnaissante à vos soutiens et à vos aides généreux.

Aux Docteurs Vétérinaires : Bellabes R, Khaled H, Akloul et Ammeur A
Pour leur participation plus qu'active à ce travail et leur bonne humeur.

Aux vétérinaires et aux éleveurs qui ont participé à la réalisation de ce mémoire,
Pour votre coopération, votre patience et votre temps sacrifié. Remerciements les plus distingués.

A tout(e)s mes ami(e) s qui m'aiment et qui m'ont encouragé.

Pour toutes les personnes que j'ai rencontrées au cours de mon chemin et pour toute l'aide qu'ils m'ont apportée y compris un sourire ou un souhait de réussite.

JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL A :

Mes très chers parents,

Grâce à vos prières, votre amour et vos encouragements que j'en suis là aujourd'hui.

En espérant vous apporter autant. Tout mon amour et ma profonde affection.

Mon mari et mon bien aimé,

Ton soutien, ton amour et tes encouragements sont la source de ma confiance en soi. Que tu trouves ici l'expression de mes sincères reconnaissances.

Mes sœurs et mon frère,

Votre soutien constant tout au long de mes études, vos sentiments sincères et votre inquiétude m'ont beaucoup apporté. Vous êtes toujours présents dans les coups durs. Avec toute mon affection.

Mes beaux frères,

Je suis fière et j'ai l'honneur d'ajouter quatre frères à ma famille. Vous êtes très aimables. Moussa et Farouk sans vous il aurait été très difficile de réussir ma partie expérimentale. Je serai toujours reconnaissante.

Ma belle famille,

Je vous remercie pour votre soutien et de partager aujourd'hui ma joie.

Mes neveux et mes nièces,

Mes petits anges que j'adore. Je vous souhaite la santé et la réussite au future.

TABLE DES MATIERES

RESUME	2
REMERCIEMENTS	5
TABLE DES MATIERES	8
LISTE DES ILLUSTRATIONS	10
LISTE DES TABLEAUX	12
INTRODUCTION	13
1. PHYSIOLOGIE DIGESTIVE DU LAPIN ET LE SYNDROME DIARRHEIQUE	15
1.1 Le Lapin : Un système digestif complexe	15
1.1-1 Organisation générale	15
1.1-2 Particularité digestive	16
1.1-3 Flore digestive	18
1.1-4 Sevrage:fragilité digestive	20
1.2 Revue des principales maladies digestives	23
1.2-1-Pathologies digestives d'origine bactérienne	23
1.2-2 Pathologies digestives d'origine parasitaire	24
1.2-3 Pathologies digestives d'origine virale	25
1.2-4 Pathologies digestives d'origine inconnue	26
2. LES <i>ESCHERICHIA COLI</i> ENTEROPATHOGENES ET LA COLIBACILLOSE DU LAPIN	28
2.1 Les différentes classes d' <i>E. COLI</i> enteropathogenes	28
2.2 Colibacillose du lapin	37
2.2-1 Souche RDEC-1 : 1ère mise en évidence d'une étiologie EPEC	37
2.2-2 <i>E. coli</i> O103 :H2 :K- : Confirmation et virulence d'une EPEC	38

3. METHODES D'ISOLEMENT ET D'IDENTIFICATION DES <i>ESCHERICHIA coli</i> ENTEROPATHOGENES	44
3.1 Echantillonnage et sujets cibles	44
3.2 Prelevement	44
3.3 Diagnostic de laboratoire	46
3.3-1 Etude histologique	46
3.3-2 Etude bactériologique	47
3.3-3 L'infection expérimentale	49
CONCLUSION DE LA PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	50
4. PARTIE EXPERIMENTALE	51
4.1 Problematique	51
4.2 Matériels et Méthodes	52
4.2-1 Enquête par questionnaire	52
4.2-2 Suivi sanitaire	53
4.2-3 Etude bacteriologique	57
4.2-4 Etude Statistique	62
4.3 Résultats	62
4.3-1 Etude du questionnaire	62
4.3-2 Suivi sanitaire	69
4.3-3 Etude bactériologique	70
4.4 Discussion	77
4.4-1 Questionnaire	77
4.4-2 Suivi sanitaire	81
4.4-3 Etude bactériologique	83
CONCLUSION	88
RECOMMANDATION	89

APPENDICES

A : Questionnaire	90
B : Fiche de suivi d'élevage	91
C : Logigramme de la méthode de dénombrement de la flore colibacillaire	92
D : Coloration de Gram	93
E : Tables de lecture (antibiogramm)	94
F : Résultats Et Interprétation Des Diamètres Des Zones De d'inhibitions	96
G : Autopsie après mortalité	98
H : Liste Du Matériel Non Biologique Utilisé	99
I : Liste Des Abréviations	100

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	101
-----------------------------	-----

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1.1: Appareil digestif du lapin	15
Figure 1.2: La cæcotrophie chez le lapin	17
Figure 1.3: Fonction dualiste du côlon proximal	17
Figure 1.4: Effet des AGV sur l'équilibre de la flore caecale	19
Figure 1. 5: Causes de dérèglement du caecum	21
Figure 2.1: structure et principales caractéristiques d' <i>E.coli</i>	28
Figure 2 .2 : Représentation de l'adhésion des EPEC aux villosités intestinales	36
Figure 2-3: Lésions de colibacillose avec typhlite hémorragique	40
Figure 2-4: Lésions de colibacillose avec foyers nécrotiques hépatiques	40
Figure 2-5: Hypothèses de diffusion des souches d' <i>E. coli</i> O103	43
Figure 4.1 : Carte géographique représentant lieux des élevages étudiés	54
Figure 4.2: Lapin néo-Zélandais blanc au sevrage	55
Figure 4.3: Logigramme du processus bactériologique	58
Figure 4.4 : Colonie caractéristique de <i>E.Coli</i> sur Mac-Conkey	60
Figure 4.5 : Colonie caractéristique de <i>E.Coli</i> sur Hektoene	60
Figure 4.6 : représentation des pourcentages des vétérinaires rencontrant ou non des pathologies d'élevages cynicoles	63
Figure 4.7 : Implication des différentes pathologies en cynicultures	64
Figure 4.8 : Situation du syndrome diarrhéique en élevages cynicoles	65
Figure 4.9 : Implication des différents agents causals dans le syndrome diarrhéique	66
Figure 4.10 : Pourcentages des différents moyens de diagnostic du syndrome diarrhéique	67
Figure 4.11: Cas diarrhéique	70
Figure 4.12: Dénombrement de la flore colibacillaire	71
Figure 4.13 : Histogramme des moyennes de la flore colibacillaire dans le 1 ^{er} élevage	72

Figure 4.14 : Histogramme des moyennes de la flore colibacillaire dans le 2 ^{ème} élevage	73
Figure 4.15 : Histogramme des moyennes de la flore colibacillaire dans le 3 ^{ème} élevage	74
Figure 4.16 : Bacille Gram négatif caractéristique morphologique des <i>E.coli</i>	74
Figure 4.17 : Galerie API représentant les caractères biochimiques d' <i>E.coli</i>	75

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 4.1: Estimation du nombre et % des vétérinaires rencontrant ou non des pathologies en cuniculture	63
Tableau 4.2 : Les pathologies d'élevages selon le témoignage des vétérinaires	64
Tableau 4.3 : Implication du syndrome diarrhéique selon les vétérinaires (Nbre et %)	65
Tableau 4.4 : Les différents agents causals du syndrome diarrhéique selon les réponses des vétérinaires	66
Tableau 4.5 : Les moyens du diagnostic du syndrome diarrhéique selon les réponses des vétérinaires	67
Tableau 4.6 : Les différents traitements utilisés face à des pathologies digestives	68
Tableau 4.7: Résultats cliniques observés en post sevrage	69
Tableau 4.8: Enumération (\log_{10} UFC/g) des <i>E.coli</i> dans les fèces des lapins sevrés durant quatre semaines dans l'élevage 1	71
Tableau 4.9: Les nombres moyens (\log_{10} UFC/g) des <i>E.coli</i> dans les fèces des lapins sevrés durant quatre semaines dans l'élevage 2.	72
Tableau 4.10: Les nombres moyens (\log_{10} UFC/g) des <i>E.coli</i> dans les fèces des lapins sevrés durant quatre semaines dans l'élevage 3.	73
Tableau 4.11 : Résultats de l'antibiogramme des souches étudiées	76

INTRODUCTION

La cuniculture est un secteur d'élevage particulier qui a dû faire face depuis quelques années à une modification de ses pratiques; la production traditionnelle a peu à peu laissé la place à des productions rationnelles mieux adaptées.

Deux syndromes principaux sont classiquement identifiés chez le lapin : le syndrome respiratoire qui domine chez les adultes et le syndrome digestif, plus fréquent chez les lapins en croissance [1]. Ces dominantes pathologies mènent l'élevage à des problèmes de morbidité et de mortalité ayant sans doute un impact économique considérable.

Les études basées sur l'autopsie, ont révélé, selon l'âge et le type d'élevage, 14 à 98% des cas de mortalité sont liés à des lésions du système digestif [2]. L'impact économique d'un épisode de maladie digestive est évalué à 0,78 €/lapin [3]

Dès le début des années 1980, des entérites dues à des souches colibacillaires hautement pathogènes (EPEC) provoquent une morbidité et une mortalité dépassant parfois 50 % chez les lapins sevrés [4 ; 5]. Ces souches représentent chez le lapin la seule classe pathogène d'importance, puisqu'elles sont responsables de 25 à 40% des pertes économiques en élevage en comparaison avec les autres pathologies digestives rencontrées (coccidiose, maladie de Tyzzer, rotavirose) [2 ; 4]. Ces répercussions économiques sévères, par le biais de perte de poids, de retard de croissance et de mortalité ont bien évidemment suscité l'intérêt de nombreuses études, révélant ainsi sa réelle causalité dans les affections digestives.

En Algérie, les approches menées ne se sont jusqu'à maintenant pas intéressées à cette pathologie. Il nous a apparu opportun d'explorer nos élevages cunicoles avec une nouvelle vision et d'entreprendre une étude dans un objectif de :

Évaluer l'implication du syndrome diarrhéique due à *Escherichia coli* dans nos élevages cunicoles et de tester leurs sensibilités aux antibiotiques; sur une aire d'étude se limitant à la wilaya de Blida.

Afin d'atteindre ces objectifs, nous envisageons dans notre travail deux parties :

- Une revue bibliographique comportant trois chapitres et relative à :
 - Un rappel sur les particularités de la flore digestive du lapin ainsi ses différentes pathologies digestives.
 - Une exploration des différentes classes d'*Escherichia coli* entéropathogènes associées à leurs facteurs de virulence puis nous présenterons une synthèse concernant la colibacillose du lapin.
 - Une synthèse sur les méthodes d'isolement et d'identification des *Escherichia coli* liés au syndrome diarrhéique chez le lapin.

- Une partie expérimentale comportant trois étapes :
 - Une enquête sur le terrain par questionnaire destiné aux vétérinaires privés dans un but de connaître la situation des diarrhées dans nos élevages pour mieux cerner la situation de nos élevages cunicoles selon la vision des praticiens.
 - Un suivi de trois élevages de lapins en post-sevrage pendant quatre semaines dans le but de déterminer le taux des diarrhées et des mortalités.
 - Un examen bactériologique des matières fécales dans le but d'isoler et d'identifier les souches d'*Escherichia coli* pour déterminer leur rôle dans le syndrome diarrhéique noté puis tester leurs sensibilités aux antibiotiques choisis.

CHAPITRE 1

PHYSIOLOGIE DIGESTIVE DU LAPIN ET LE SYNDROME DIARRHEIQUE

Chez le lapin en croissance ; les affections digestives, sous l'action de différents agents causals, se regroupent sous le nommé Syndrome Diarrhéique, qui a fait l'objet d'une synthèse dans ce chapitre, en abordant en premier la physiologie et les particularités digestives de cet animal.

1.1 Le Lapin : un système digestif complexe :

1.1-1 Organisation générale

L'appareil digestif est composé d'une succession de compartiments dont la muqueuse est en contact avec le bol alimentaire : la bouche, l'oesophage, l'intestin grêle (duodénum, jéjunum puis iléon), le c ecum, le c olon (proximal et distal), puis le rectum aboutant à l'anus (Figure 1.1).

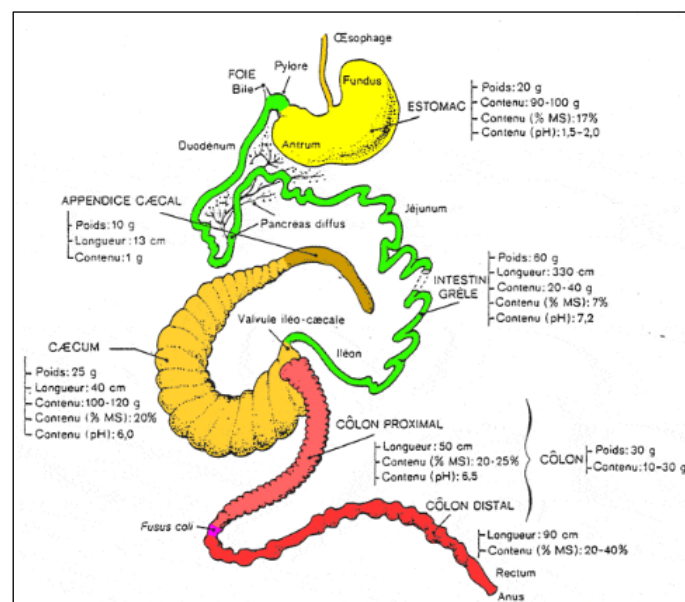


Figure 1.1: Appareil digestif du Lapin [26]

Celui du lapin est très particulier [6] : l'intestin grêle représente une faible part du tractus digestif (56% de la longueur et 12% du volume de l'ensemble intestin grêle-cæcum-côlon), alors que le cæcum est très développé : en volume, il représente 90% de l'ensemble intestin grêle-cæcum-côlon alors que pour la plupart des espèces domestiques il compte seulement pour 4 à 11% de cet ensemble. Seul le cheval a également un cæcum bien développé (30%). A ces organes viennent s'ajouter des glandes annexes sécrétoires reliées à différents niveaux de ce dispositif : les glandes salivaires, le foie et le pancréas.

Par ailleurs des éléments lymphoïdes, diffus ou organisés, sont disséminés tout au long de l'appareil digestif lui conférant un rôle important dans la défense de l'organisme : les plaques de Peyer de l'intestin grêle, le *sacculus rotundus* au niveau de la jonction iléo-cæcale et l'appendice cæcal (ou vermiforme) à l'extrémité distale du cæcum [7].

1.1-2 Particularité digestive : cæcum, cæcotrophie et l'activité dualiste du côlon :

Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est un mammifère herbivore non ruminant qui se distingue par des particularités:

- Anatomiques: à coté des caractéristiques de chaque segment digestif, le lapin est marqué par l'existence de deux réservoirs de même importance volumétrique; l'estomac et le cæcum
- Biologiques: dès 1882, le docteur vétérinaire MOROT avait mis en évidence la production par le lapin d'une variété de crottes molle entourées d'une couche de mucus appelées cæcotrophes et émises préférentiellement le matin [8].

Notre lapin et avec un geste de gymnastique propre à lui récupère ses cæcotrophes dès leur émission directement de l'anus par aspiration. Le phénomène de cæcotrophie (Fig1.2) permet au lapin d'obtenir un supplément de vitamine B, C et de matières azotées [9; 10].

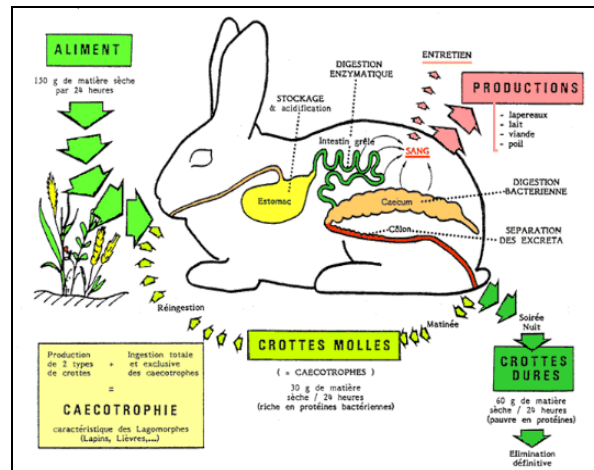


Figure 1.2: La caecotrophie chez le lapin [26]

Son grand cæcum (40% de la masse digestive) une véritable cuve microbienne de fermentation, contient une population de micro-organismes qui utilisent au mieux les nutriments fournis par sa ration. Il s'agit de la synthèse et l'absorption d'acides gras volatiles (AGV), source d'énergie (peuvent couvrir 30 à 40% des besoins énergétiques d'entretien du lapin adulte), issus des fermentations des bactéries anaérobies [11; 12].

Le côlon proximal du lapin (Fig1.3) est capable de séparer des grosses particules, issues de la digestion, de celle des petites et cela en directions opposées. Les premières, riches en fibres indigestibles sont éliminées, en fin de journée et la nuit, sous forme de crottes dures. Les petites particules, caecotrophes, avec une direction rétrograde, rejoignent le caecum pour subir des fermentations bactériennes. Il s'agit ainsi de la fonction dualiste du côlon [11].

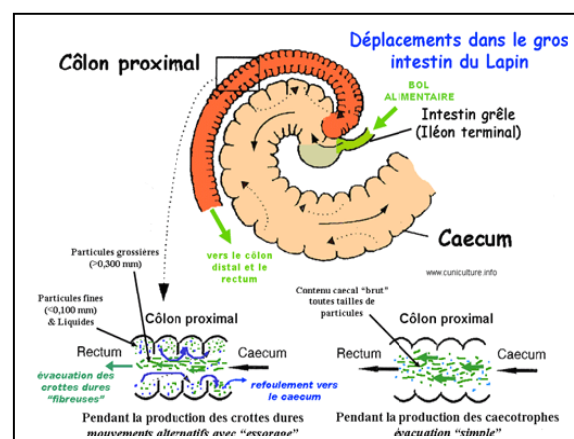


Figure 1.3: Fonction dualiste du côlon proximal [26]

Si la cœcotrophie permet une utilisation optimale de la ration alimentaire, on est en droit de penser que cette pratique favorise l'entretien des flores bactériennes entéropathogènes, donc, la pérennité voir la dissémination des infections entre congénères notamment de la mère à ses petits (MILON, 1993) [13] cité par GRANGE.S.K (2003) [14].

1.1-3- Flore digestive

La répartition de la flore "biocénose" dépend du segment du tractus digestif "biotope" qui l'héberge ainsi que son rôle lors de la digestion.

1.1-3-1 Implantation de la biocénose:

Le biotope cœcal du lapin a fait l'objet de nombreuses études, principalement menées par des nutritionnistes et des microbiologistes utilisant des méthodes de laboratoires classiques et moléculaires.

Jusqu'à la fin de la première semaine d'âge, la partie antérieure du tube digestif du lapereau est presque stérile (contrairement à celle du porcelet ou du rat) [12].

A partir du 30^{ème} jour, l'estomac est un biotope qui, malgré une variation individuelle; permet une colonisation d'un nombre total de bactéries n'excédant jamais 10^4 et 10^6 bactéries / g de contenu.

En revanche, l'intestin grêle présente une colonisation bactérienne plus rapide et plus abondante, les populations de la flore se stabilisent au sevrage entre 10^6 – 10^8 bactéries / g de contenu [15].

La biocénose cœcale et celle du colon est plus abondante (10^7 – 10^9 / g de contenu) se maintient à des valeurs élevées (10^9 – 10^{10} / g de fèces) tout au long de la vie de l'animal [16; 15; 12].

Le cœcum est un biotope assurant la dégradation des nutriments par les micro-organismes aboutissant à la production de nombreux composés, dont les

principaux sont des gaz (CO_2 , CH_4 , H_2), les Acides Gras Volatils (AGV) et l'ammoniac (NH_3). Ces deux derniers sont absorbés en quasi-totalité par la paroi caecale.

Dès que l'animal ingère l'aliment solide, vers 18 j d'âge, la concentration caecale en AGV augmente progressivement alors que celle de l'ammoniac baisse légèrement, entraînant ainsi une baisse progressive du pH [17]. Il est important de signaler que les AGV exercent un rôle de contrôle sur les colibacilles et les clostridies (Fig1.4); ces bactéries sous l'effet d'un facteur stressant peuvent échapper à ce contrôle, et se multiplier de façon anarchique et exercer leur effet pathogène sur la muqueuse intestinale.

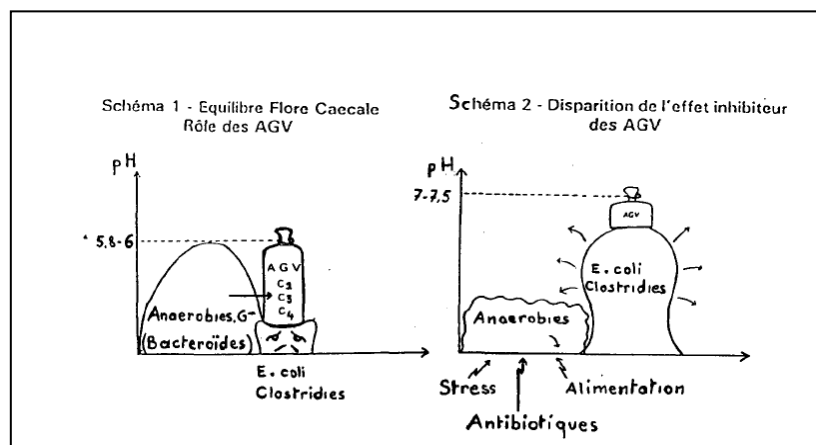


Figure 1.4: Effet des AGV sur l'équilibre de la flore caecale [8]

1.1-3-2 Prédominance d'une flore anaérobie :

Pendant les deux premières semaines post-natales, le nombre de bactéries anaérobies facultatives est parfois équivalent à celui des anaérobies stricts. Dès la troisième semaine de vie, les bactéries anaérobies facultatives chutent (10^2 - 10^4) et sont fréquemment absentes après sevrage alors que les bactéries anaérobies strictes restent stables à 10^8 - 10^9 bactéries/g du contenu caecal [2; 17].

Les bactéries anaérobies strictes non sporulées, Gram négatif, constituent la flore digestive prédominante et caractéristique du lapin tels que *Bactéroïdes* et *Fusobacterium*.

Les bactéries anaérobies sporulées, appartenant au genre *Clostridium*, sont présentes en quantité 100 à 1000 fois inférieure à *Bacteroides*.

Chez le lapereau, l'absence du genre *Lactobacillus* est originale par rapport aux autres mammifères domestiques [17].

Le microbiote anaérobie facultative apparaît simple, et dominé par les streptocoques (*Streptococcus faecalis* et *S. faecium*) jusqu'au 14ème jours d'âge.

Puis leur répartition devient plus irrégulière pour n'atteindre au sevrage que des populations de $10^2 - 10^4$ par gramme de contenu [15; 13].

Contrairement au rumen, la biocénose caecale du lapin ne contiendrait ni protozoaires, ni champignons anaérobies [18].

1.1-3-3 Flore colibacillaire :

Escherichia coli est généralement absent chez le lapereau de 2 ou 3 j d'âge; il apparaît à 7 jours chez les lapins et atteint un maximum (10^7 bact/g) à la fin de la troisième semaine d'âge, puis chute brusquement pour se stabiliser à des populations de 10^4 / g de fèces après le sevrage [17]. En revanche, il n'est pas rare de dénombrer, chez les adultes, 10^9 à 10^{11} colibacille par gramme

1.1- d'excréments suite à une perturbation de la flore [19].

1.1-4- Sevrage: fragilité digestive:

Le transit digestif du lapin semble sous la dépendance étroite des sécrétions d'adrénaline. Une hypersécrétion associée à un stress entraîne un ralentissement de la motricité digestive et un risque élevé de troubles digestifs.

Les causes de ce dysfonctionnement peuvent être non spécifiques (transport, nutritionnelles, zootechniques) ou spécifiques (antibiotiques, bactériennes, virales, parasitaires (coccidies)) isolées ou associées [19; 20]. Il en résulte un déséquilibre de la flore cæcale usuelle et un arrêt des habitudes, telle que la cæcotrophie, créant ainsi un terrain favorable au développement de diarrhées

colibacillaires ou autres [21; 22; 23]. La figure 1.5 représente un schéma récapitulatif des différentes causes du dysfonctionnement digestif.

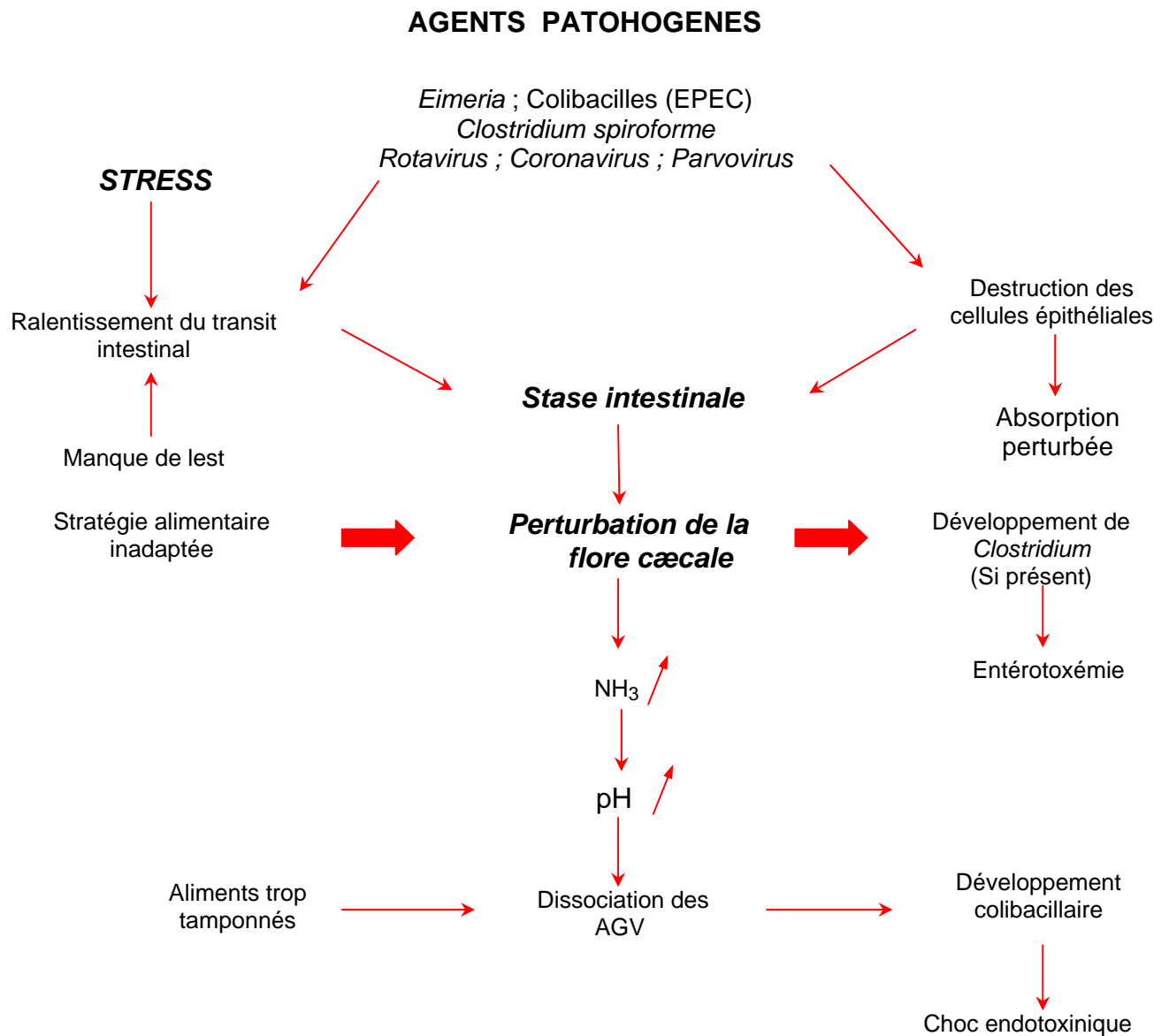


Figure 1. 5: Causes de dérèglement du caecum [5]

Les mauvaises conditions d'élevage (température, humidité, ventilation et équipement) sont aussi des facteurs favorisant ou entraînant des pathologies digestives [2; 24].

L'alimentation du lapin constitue l'un des problèmes les plus importants à résoudre, puisque d'une part elle représente 55 à 70% du coût de l'élevage [25] et d'autre part ; elle peut perturber le métabolisme digestif dans le cas d'une distribution:

- Une ration inadaptée qualitativement ou quantitativement.
- Un abreuvement inadéquat.
- Un changement brutal du régime alimentaire.

Une alimentation destinée aux lapins doit prendre en considération la teneur en énergie digestible(ED), en protéines et en fibres. Ces paramètres diffèrent selon la section d'élevage (reproduction, engraissement et sevrage) et l'âge des lapereaux; malgré qu'il soit impossible de déterminer avec exactitude la quantité et la qualité des fibres qui pourraient garantir l'équilibre optimum santé productivité [26].

Il est important de signaler que la section la plus susceptible aux maladies digestives concerne les lapins en post sevrage, exige le respect des teneurs en fibres dans leurs régimes [27]. Une alimentation déficiente en fibre est un facteur qui pourrait augmenter la sensibilité des lapereaux vis-à-vis d'une infection à *E. coli* [28]. La recherche, menée par GIDENNE et ses collaborateurs ; a démontré que les fréquences des diarrhées, la mortalité et la morbidité sont significativement réduites chez le lapin en post sevrage suite à une réduction linéaire quantitative [29] et il est de même pour le mode de distribution de l'alimentation [30].

La composition chimique de l'aliment est aussi un facteur stressant le métabolisme digestif. Nos lapins sont sensibles aux ionophores [31], aux résidus d'antibiotiques [32], aux bactéries et les champignons et particulièrement sensibles aux mycotoxines [19; 33].

La qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau d'abreuvement semblerait causer des problèmes digestifs et autres. L'eau doit être correct au niveau qualitatif et quantitatif, selon la section d'élevage et le type d'alimentation distribué [2 ; 34].

Un passage d'un régime lacté à un régime alimentaire solide et plusieurs fois par jour, expose nos lapins à divers dérèglements digestifs dont les causes sont plurifactorielle s'expriment seules ou de façon associée [36; 37].

Les colibacilles, un constituant normal de la flore digestif, n'ont pas été considéré et pendant longtemps comme agents pathogènes vrais, malgré la forte augmentation de la numération colibacillaire lors de pathologie digestive [14].

La reproduction expérimentale de colibacillose par certaines souches, telles que les souches O15 et O103, était le but de plusieurs chercheurs qui ont permis d'affirmer définitivement l'extrême virulence de ces souches et leur implication dans les diarrhées sévères touchant les lapins sevrés et de déterminer la classe à laquelle elles appartiennent [5; 38; 39].

1.2 Revue des principales maladies digestives (Le Syndrome Diarrhéique) :

Les affections digestives constituent la cause essentielle de la morbidité et de la mortalité, chez le lapin de chair en croissance. Les étiologies de ces affections restent encore parfois difficiles à établir car les signes cliniques ne sont pas pathognomoniques. L'un d'entre eux, la diarrhée, est largement dominant : on la rencontre dans plus de 95% des cas [1]. C'est surtout chez les jeunes lapins après le sevrage (4 à 10 semaines) que la diarrhée revêt une importance économique grave. On la rencontre parfois chez le jeune lapereau sous la mère ou plus rarement chez les adultes où elle représente généralement la conséquence ultime d'une autre affection [37; 20].

On représentera les différentes causes infectieuses menant à ce syndrome chez le lapin après le sevrage.

1.2-1-Pathologies digestives d'origine bactérienne:

Selon la littérature plusieurs espèces bactériennes ont été impliquées dans les pathologies digestives du lapin domestique. A ce jour, seuls *Escherichia coli*, *Clostridium piliforme* et *Clostridium spiroforme* sont les espèces les plus souvent impliquées et sont l'objectif de plusieurs recherches.

Escherichia coli : une partie ultérieure (II) est consacrée pour établir une synthèse bibliographique concernant cette espèce.

Clostridium piliforme: c'est l'agent causal de la maladie de Tyzzer. C'est uniquement dans sa forme aigue que des diarrhées sont observées chez des animaux de tout âge et principalement lors du sevrage. A l'autopsie, une typhlite aigue pseudomembraneuse, un œdème massif de la paroi caecale et des foyers nécrotiques punctiformes disséminés dans le parenchyme hépatique et parfois dans le myocarde peuvent être observés. Le diagnostic de confirmation est obtenu par une microscopie optique et la coloration de Giemsa ou imprégnation à l'argent qui permet de mettre en évidence les bacilles intracellulaires [2].

Clostridium spiroforme: Ces germes anaérobies, sporulants et toxigènes (Toxine dite iota-like) sont fréquemment rencontrés dans les épisodes entéritiques. En France, *C.spiroforme* est diagnostiqué dans environ 10% des examens effectués et il est aussi fréquent en Italie [1]. Le diagnostic de confirmation est simple, il est obtenu par la coloration de Gram qui met en évidence la présence de grande quantité de bacilles Gram positif semi-circulaires et un enchaînement en forme hélicoïdale spiralée caractéristique [40].

I.2-2 Pathologies digestives d'origine parasitaire :

De nombreux parasites sont régulièrement observés ou isolés des fèces des lapins morts de diarrhée, il s'agit le plus souvent de:

Eimeria: Il s'agit de dix espèces de coccidies qui parasitent le lapin dont neuf ayant un tropisme intestinal et une ayant un tropisme hépatique. Celles visant l'intestin ont un pouvoir pathogène variable:

- Espèces très pathogènes provoquant une forte diarrhée, mortalité supérieur à 50%, DL50 ±3000 ookystes et gros retard de croissance; il s'agit de *E.intestinalis* et *E.flavescens*.

- Espèces pathogènes induisant des diarrhées, peu de mortalité et un retard de croissance de l'ordre de 15 à 20% de poids vif; il s'agit de *E.media*, *E.Magna*, *E.piriformis* et *E.irresidua*.
- Espèces peu ou non pathogènes n'induisant pas de diarrhées ni de mortalité mais en cas d'une infestation massive un retard de croissance peu être mis en évidence; il s'agit de *E.perforans*, *E.exigua*, *E.vedovski* et *E.coecicola* considérée comme non pathogène [19 ; 41].

La prévention et le contrôle des coccidioses chez le lapin posent toujours un problème. Un examen direct est indispensable et doit être suivi par un comptage des ookystes dans les matières fécales, à partir de 5000 ookyste par gramme de fèces le traitement devient indispensable [19].

Le principal problème de cette parasitose est de déterminer si les coccidies sont la cause primaire des pathologies digestives observées dans un élevage particulier ou si elles ne font qu'exacerber le pouvoir pathogène d'autres agents tels que les *E.coli* [2].

Cryptosporidium spp. peut être détecté dans 5.8% des contenus intestinaux des lapins à l'engraissement présentant de la diarrhée. Il semblerait, que leur présence diminue l'absorption intestinale vu que l'histologie révèle une atrophie et des lésions des villosités intestinales [19].

Lambliia intestinalis, flagellé facilement identifiable à partir du contenu caecal, par observation directe au microscope. Malgré leur isolement fréquent chez les lapins présentant des diarrhées, ces parasites ne semblent pas suffire pour provoquer une entérite mais cela n'empêche pas de les éliminer pour permettre une reconstitution favorable de la microfaune intestinale [2].

1.2-3 Pathologies digestives d'origine virale

Plusieurs recherches ont pu mettre en évidence la présence d'un ou plusieurs agents viraux dans 37.3% des matières fécales des lapins morts de pathologies digestives. Le plus souvent il s'agit des rotavirus (41.9%), les *Coronavirus* (25.6%), les *Parvovirus* (21.1%) et les *Enterovirus* (10.3%) [19].

Les rotavirus sont considérés comme agents ayant une intervention directe dans l'étiologie des pathologies digestives chez les lapins jeunes (1 à 2mois d'âge). Ceux-ci sont présent de manière endémique dans les clapiers et ne provoquent, sauf complications bactérienne secondaires; que des troubles digestifs mineurs et temporaires en perturbant la dégradation des disaccharides et créant ainsi une diarrhée osmotique [19 ; 2].

1.2-4 Pathologies digestives d'origine inconnue

1.2-4-1 Entéropathie épizootique du lapin (EEL):

Il s'agit d'un nouveau syndrome entérique grave, apparu en fin 1996, produisant une mortalité souvent supérieure à 30%. En France 90% des élevages rationnels ont été touchés.

En règle générale, cette pathologie atteint les animaux en engraissement entre l'âge de 6 et 14 semaines mais des cas sporadiques peuvent également être observés chez des animaux plus âgés. Le tableau clinique caractérisant EEL est l'apparition brutale de diarrhées aqueuses de très faible intensité, des ballonnements abdominaux considérables avec présence d'un contenu intestinal très liquide et parfois gazeux sans évidence de lésions d'entérite aigue ou chronique, ni d'hémorragies intestinales. A ce jour; le ou les agents responsables de l'EEL n'ont pas encore été clairement identifiés [42 ; 43].

1.2-4-2 Entéropathie mucoïde (EM):

Depuis 1943 les études font apparaître de nombreuses similitudes entre cette pathologie et l'EEL. Elle n'avait été signalée qu'en Grande-Bretagne et aux Etats-Unis. Cela n'empêche pas d'établir des différences majeures:

- L'aspect macroscopique dans l'EM se caractérise par une forte dilatation de l'estomac et de l'intestin grêle sans lésions apparentes

épidémique de l'EEL qui s'est étendue à travers l'Europe, alors que l'EM se présentait plutôt de manière sporadique dans les élevages.

- Les aspects lésionnels sont également très différents : stase caecale et production de mucus dans l'EEL. Comme pour l'EEL, l'étiologie de l'EM n'est pas connue avec précision [42 ; 2].

Nous pouvons conclure que ; notre petit animal est une proie des maladies digestives. La colibacillose en tant que pathologie dominante chez le lapin en croissance, a attiré l'intention de multiples recherches. A notre niveau, nous envisageons de l'étudier dans le second chapitre en commençant par l'exploration de l'agent en cause.

CHAPITRE 2

LES *ESCHERICHIA COLI* ENTEROPATHOGENES ET LA COLIBACILLOSE DU LAPIN

Les colibacilloses en élevage cynicole sont essentiellement dues aux *Escherichia coli* appartenant à la catégorie des EPEC dont certains pathovars sont responsables de pertes importantes après le sevrage mais parfois aussi avant le sevrage. Notre approche consiste tout d'abord de situer le groupe EPEC par rapport aux autres classes d'*E. coli* puis rappeler les avancées obtenues sur les connaissances des mécanismes de pathogénicité et les facteurs de virulences mis en jeu lors de cette maladie.

2.1 Les différentes classes d' *E. coli* entéropathogènes :

Escherichia coli est un hôte normal du tractus intestinal. C'est un bacille gram négatif mobile ou immobile, aéro-anaérobie facultatif appartenant à la famille des entérobactéries. Sa structure est détaillée sur la figure 2.1.

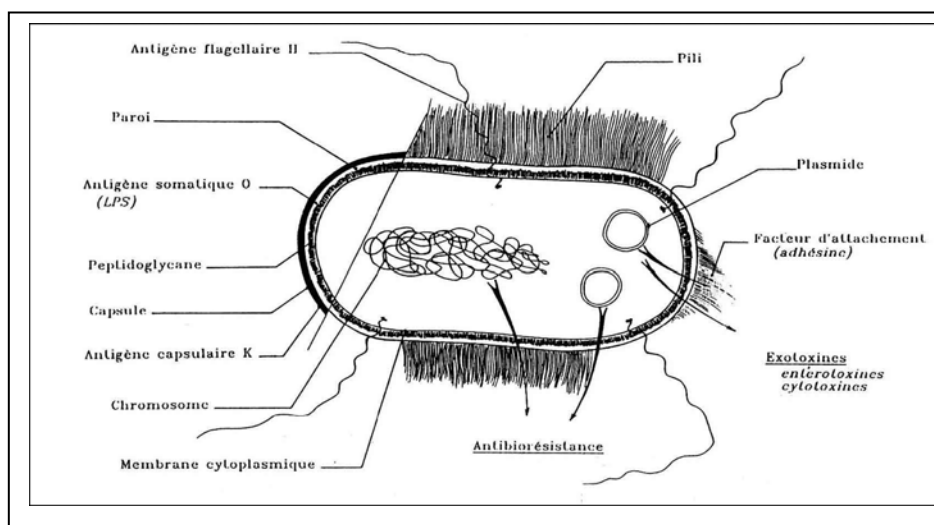


Figure 2.1: structure et principales caractéristiques d'*E. coli* [40]

Toutefois, les *E. coli* qui hébergent des gènes de virulence codant des facteurs de colonisation ou des toxines deviennent pathogènes et peuvent notamment - selon l'hôte - provoquer de la diarrhée, une septicémie [44], des infections urinaires ou une insuffisance rénale [45].

Cette partie nous permet de faire le point sur les connaissances actuelles des *Escherichia coli* responsables de diarrhée et leurs facteurs de virulence.

2.1-1 Sérotypage et biotypage :

En 1885, Théodore Escherich isole un micro-organisme, *Bacterium coli commune*, aujourd'hui connu sous le nom d'*Escherichia coli*.

Ce bacille Gram négatif aéro-anaérobie facultatif, mobile ou non, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* est reconnu comme pouvant engendrer de sérieux troubles intestinaux tant chez l'homme que chez les animaux.

Le sérotypage, selon le schéma de Kaufman (1947), est défini par la combinaison de certains antigènes de surface que l'on peut mettre en évidence et se décline comme suit :

AgO ou **somatiques** : (de l'Allemand "*Ohne Kapsel*")

Il s'agit d'un lipopolysaccharide (LPS) localisé dans la paroi; des réactions croisées entre *E. coli* et salmonelles ont été décrites [47].

Ag K ou **capsulaires** : (ou antigène de Kaufman)

De nature polysaccharidique citons par exemple, K88 (F4) du porc ou K99 (F5) du veau.

La majorité des souches colibacillaires en sont dépourvues [47].

Ag H ou **flagellaires** : (de l'Allemand "*Hauch*")

De nature protéique et présents uniquement chez les bactéries mobiles.

Le biotypage, examinant les propriétés de fermentation des sucres ou d'autres substrats. Le biotypage est un complément intéressant pour différencier les souches colibacillaires [48 ; 49 ; 47]. Une corrélation positive est notée entre biotype et pathogénicité.

Tous les sérogroupes et biovars ont été réunis par NETER (1955) cité par Levine M.M., 1987 [50] sous le terme général d' *E. coli* entéro-pathogènes.

Toutefois le pouvoir pathogène n'est ni nécessairement ni directement lié à la possession de ces antigènes. Certaines souches expriment leur virulence en produisant des exotoxines ou en possédant d'autres facteurs de virulence.

L'exploration et la découverte de ces facteurs marquent une étape essentielle en proposant un schéma de classification des colibacilles plus cohérent basé sur leur mécanisme d'action (pathogénicité), c'est -dire sur la notion de pathovars (variété pathogène d' *E. coli*) [51].

Ce schéma, tout d'abord appliqué aux souches colibacillaires humaines, fut adapté aux souches animales en raison de leurs nombreuses similitudes.

Cinq groupes (pathovars) sont aujourd'hui reconnus chez les *E. coli* responsables de diarrhées [50]: les *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC), les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC), les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), les *E. coli* entéroraggrégatifs (EAggEC) et les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC).

2.1-2 ETEC ou *E. coli* entérotoxinogènes:

La clarification du matériel entérotoxique d'*Escherichia coli* a résulté au début des années 70 avec l'établissement au moins de deux types d'entérotoxines, l'une thermolabile (LT) et l'autre thermostable (ST) distinguée en STa et STb [52].

Ces entérotoxines spécifiques sont à l'origine des troubles hydro-électrolytiques responsables de la diarrhée.

Ces souches sont fréquemment identifiées lors de diarrhées infantiles dans les pays en voie de développement et également dans les pays industrialisés où elles touchent principalement l'adulte sous la célèbre "diarrhée du voyageur" ou "Tourista" [52].

En médecine vétérinaire, les espèces bovines [53] et porcines semblent majoritairement touchées mais leur implication a également été mise en évidence dans les diarrhées du chien [54].

Le diagnostic différentiel de ces souches au sein de la flore intestinale est relativement délicat et repose sur la mise en évidence de deux facteurs de virulence définis par Smith et Halls, 1967, à savoir :

- la possession de l'antigène représentant les adhésines fimbriaires (ex : K99 /veau, agneau, K88 / porc)
- la capacité de synthèse d'entérotoxines (ST et LT).

Au cours d'une infection aux ETEC, il n'existe pas de lésion anatomopathologique évidente de la muqueuse intestinale. Les structures responsables de cette propriété ont fait l'objet de nombreuses études chez les animaux. Citons pour référence les facteurs K88 (F4) des souches porcines [55], K99 (F5) des souches bovines [56 ; 57]. Ces principaux antigènes correspondent à des structures fimbriaires codées par des opérons plasmidiques.

Les souches humaines expriment également des facteurs d'adhésion appelés CFA (Colonization Factors Antigen), distingués en CFA/I et CFA/II [58].

Une autre toxine, "LT-like" a été identifiée à partir d'une souche d'ETEC de buffle et retrouvée aussi au sein des isolats humains [58].

Des recherches vaccinales ont été entreprises avec notamment des essais de vaccination sur les mères par des souches courantes pour prévenir la colonisation du tube digestif par des souches sauvages virulentes [50] et ainsi prévenir les entérites néonatales via l'immunité colostrale.

2.1-3 EIEC ou *Escherichia coli* entéroinvasifs:

En 1971, Du Pont *et al.* cité par Levine [50] décrivent chez l'homme des souches colibacillaires responsables d'un syndrome dysentérique accompagné ou non d'émission de sang et de mucus. Ces souches partagent de nombreux points communs avec les souches *Shigella dysenteriae* [50 ; 59] mais ne produisent ni ST ni LT [60]. Sur le plan biochimiques, il n'existe pas de grandes différences entre les deux souches mais les gènes de virulence sont déterminés. Des réactions croisées existent entre ces deux bactéries [40].

Ces bactéries qui colonisent la surface des muqueuses ne peuvent traverser la couche de l'épithélium grâce à l'existence de jonctions serrées entre les cellules épithéliales. Cependant les EIEC, comme les shigelles, ont développé un mécanisme propre à eux. Ces souches pénètrent via les cellules M des plaques de Payer suivie de pénétration dans les entérocytes par la base et extension collatérale.

Après le franchissement des muqueuses, les bactéries vont tenter de se multiplier dans le sang et se propager dans l'ensemble des organes internes. Elles doivent surmonter diverses défenses internes constitutives (séquestration du fer, la phagocytose et l'activité bactéricide du complément) et des défenses acquises (réponses du système immunitaire) tout en mettant en jeu des récepteurs, des gènes chromosomiques et plasmidiques.

Ces EIEC n'ont été isolés que chez l'homme et certains singes [59].

2.1-4 EHEC ou *E. coli* entérohémorragiques:

En 1982, des foyers de colite hémorragique intéressèrent des chercheurs. Ces derniers réussissent d'isoler un nouvel agent pathogène appartenant au sérovars O157 : H7; qui sera par la suite rendu responsable de Syndromes Hémolytiques et

Urémiques (SHU), en Amérique du Nord [61] au Canada et au Japon [44] et en Australie [62].

Cependant un sérotype classique d'EPEC tel O26 : H11, déjà étudié par Ørskov en 1951, fit l'objet de nouvelles études pour être considéré comme EHEC confirmant ainsi son implication étiologique dans les diarrhées infantiles [50 ; 63 ;]. En effet EHEC, comme les EPEC, sont capables d'induire les lésions de type effacement/attachement [40].

L'animal en général et le bovin en particulier est considéré comme le réservoir majeur des EHEC; en raison de la similitude entre les souches humaines et animales, impliquant notamment les infections associées à la consommation des denrées d'origine animale (bovin surtout) dans la transmission à l'homme [64 ; 44].

Ces souches EHEC produisent un autre type de toxine à des taux élevés il s'agit de cytotoxines (productions bactériennes qui induisent une modification sur les cellules eucaryotes) actives sur les cellules Vero et les cellules HeLa d'où leur nom de verotoxines (VT) et les EHEC sont ainsi appelées VTEC .Les verotoxines sont distinguées en VT1 et VT2, immunologiquement parlant elles sont proches de la toxine " Shiga", produite par *Shigella dysenteriae* de type I [50] on parle alors de Shiga-like Toxin (SLT). Ludwig avec son équipe de recherche ont étudié chez le lapin la possibilité d'une immunité croisée entre VT1 et VT2; des résultats encourageant d'étudier le développement de stratégies de vaccination visant à prévenir chez l'homme les maladies causées par les VT [65].

Les VTEC et les EPEC ont une propriété partagée qui réside dans leur capacité d' induire des lésions d'attachement/effacement associées à la destruction de l'épithélium de surface c'est la "cytotoxicité" codée par le gène *eae* .Les VTEC évoquent par la suite un rôle de destruction du réseau capillaire intestinal qui rendrait compte du syndrome colique ischémique et hémorragique [44].

2.1-5 EAggEC ou *E. coli* entéroaggrégatifs:

Un quatrième pathotype semble se dégager sur la base d'études épidémiologiques et moléculaires [50] et qui se caractérise par un pouvoir adhérent agrégatif aux cellules de type Hep-2 ou HeLa sans exprimer les autres facteurs de virulence décrit jusqu'à présent (toxines ou facteur d'adhésion).

Ces souches ont été isolées lors de diarrhées infantiles aiguës et persistantes dans les pays en voie de développement.

2.1-6 EPEC ou *E. coli* entéropathogènes:

La définition stricte de ce dernier groupe s'est affinée grâce à la détermination de ses facteurs de virulence principaux responsables de la formation de lésions d'attachement/effacement [66; 67].

Ce pathotype jadis responsable d'épidémies dévastatrices de gastroentérites infantiles particulièrement dans le milieu hospitalier et dans les crèches a virtuellement disparu des pays industrialisés [68; 66; 69].

Ces souches ont été définies à l'origine par la caractérisation de leur antigène somatique (Ag O) et flagellaire (Ag H) et l'absence d'antigènes capsulaires (Ag K- [46; 70].

Leurs propriétés biochimiques, notamment la capacité de fermentation ou non de certains substrats, définissent un biovars, élément souvent fortement corrélé à la pathogénicité des souches [47].

En médecine vétérinaire, ces souches sont impliquées dans les phénomènes diarrhéiques de nombreuses espèces (bovine, porcine, canine, féline) [71 ; 72 ; 73 ; 51]; et représentent chez le lapin la seule classe colibacillaire pathogène d'importance puisqu'elles sont responsables de 25 à 40% des pertes

économiques en élevage en comparaison avec les autres pathologies digestives (coccidiose, maladie de Tyzzer, rotavirose) rencontrées [21; 14].

Ces souches se singularisent par une non production de toxine (ST, LT) et une non invasivité.

Chez le lapin, les souches d'*E. coli* reconnues pathogènes se rapprochent toutes du pathovar EPEC de l'homme. Elles se différencient par la première étape d'adhésion lâche aux anthérocytes, et sont donc classées dans le groupe des EPEC-like. Cette particularité leur vaut parfois le nom de AEEC (Attaching – Effacing *E. coli*) [74; 68; 75; 50; 73; 60; 76].

La pathogénie fait intervenir trois étapes d'interaction avec la cellule cible à savoir [68; 76; 77]:

1/ Un attachement lâche par différentes adhésines bactériennes (fimbriae AF/R1 ou AF/R2 identifiées chez le lapin). Celles-ci reconnaissent la fraction glucidique des glycolipides et glycoprotéines présents à la surface des cellules eucaryotes. Cette étape est réversible. Lorsqu'elle est étudiée *in vitro*, cette adhésion aux cellules épithéliales est généralement diffuse avec les souches du lapin [69]. En revanche, la plupart des souches humaines provoquent une adhésion localisée, phénotype lié à une fimbriae appelée "bundle forming pili" [78].

Certaines souches n'appartenant pas aux sérovars classiques d' EPEC ont également présenté des adhésions de type localisé [35].

2/ Un contact plus étroit exige l'expression de protéines d'origine bactérienne (l'intimine et son récepteur Tir). Tir (Translocated Intimin Receptor) est transloqué dans la cellule hôte, *via* un système sécrétoire de type III, nécessitant plusieurs effecteurs différents. L'intimine, une adhésine de la membrane externe de la bactérie, se fixe alors sur la protéine Tir insérée dans la membrane de la cellule épithéliale de l'hôte [79].

Trois autres séquences génétiques apparaissent primordiales dans la genèse

de ces lésions A/E ; il s'agit des gènes codant EspA ,EspB et EspD pour EPEC Secreted Proteins (Esp ABD). Esp ABD et Tir sont sécrétées par un système de type III codé par des gènes appelés *esc/sep* [80].

Toutes ces protéines sont codées par des gènes regroupés au sein d'un "îlot de virulence" PAI (Pathogenicity Island) appelée: Locus d'Effacement des Entérocytes (LEE) [80; 81].

3/ Cette interaction aboutit à une lésion microscopique appelée "attachement/effacement" des microvillosités de la cellule hôte, lésion commune aux *E. coli* des pathovars EPEC et EHEC (Figure 2.2). Le cytosquelette de la cellule hôte est réorganisé, conduisant à une structure en forme de piédestal constitué d'actine où les bactéries sont fortement imbriquées et permettent un diagnostic par le test FAS (Fluorescent Actin Staining Test) [82]. Leur diagnostic se base sur cette particularité observée *in vitro* sur les cellules HeLa ou Hep-2 [83].

En médecine vétérinaire, les souches O103 et O15 isolées de lapins respectivement en France et en Belgique sont représentatives de la classe EPEC.

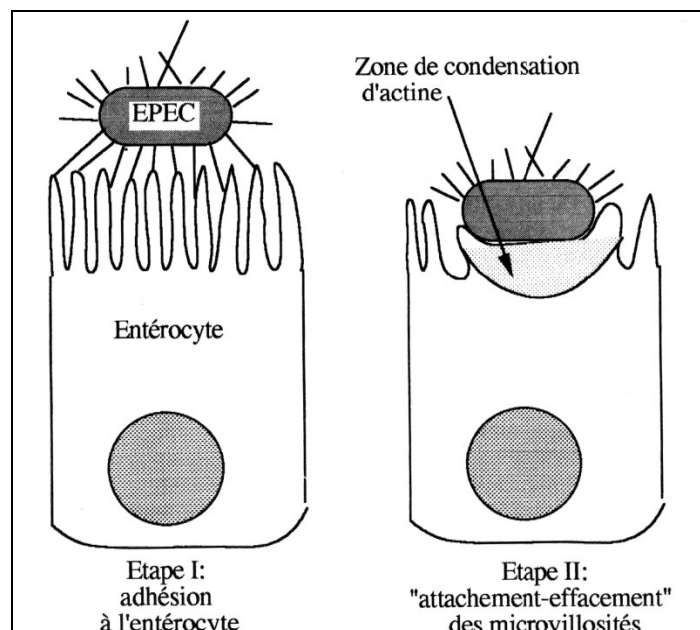


Figure 2 .2 : Représentation de l'adhésion des EPEC aux villosités intestinales [13]

2.2 Colibacillose du lapin :

Deux types de souches incriminées dans les diarrhées du lapin sont considérées comme induisant un syndrome naturel à EPEC like et représentent un excellent modèle expérimental d'études des EPEC humaines [68]; ce sont la souche RDEC-1 (O15 :H-) et la souche O103 :H2.

2.2-1 Souche RDEC-1 : 1ère mise en évidence d'une étiologie EPEC:

Le premier isolement d'une souche colibacillaire chez les lapins atteints de diarrhée a eu lieu en 1977 par les deux chercheurs, Cantey et Blake.

Il s'agissait d'une souche O15 : H- qu'ils appellent RDEC-1 (Rabbit Diarrhoea *E. coli*). De plus, ils réussissent à reproduire la diarrhée avec un faible inoculum de cette souche. Le rôle pathogène d' *E.coli* dans le développement des diarrhées et sa forte virulence; s'est avéré par la suite qu'il est lié à l'induction des lésions d'attachement/effacement en colonisant l'iléon, le caecum et le côlon .Cette souche n'est ni invasive ni entérotoxinogène [84].

La pathogénicité de cette souche est garantie par la présence d'adhésine fimbriaire plasmidique dite AF-R1 (Adhesive Factor/ Rabbit 1) responsable des lésions A/E [84; 81].

La séquence d'évènements conduisant à ces lésions d'attachement/effacement a été proposée par Cantey *et al.* [85] comme suit:

- 1) Forte colonisation de la lumière iléale, caecale et du côlon.
- 2) Attachement aux plaques de Peyer et à la bordure microvillositaire intacte par des pili et/ou les Ag capsulaires par interaction avec le glycocalyx des microvillosités.
- 3) Attachement de la bactérie (ou des Ag capsulaires) par l'intermédiaire d'un piédestal sur les entérocytes avec perte partielle ou complète de la bordure en brosse.
- 4) Diarrhée (malabsorption).

Des études récentes plus poussées sur le caractère génétique de cette virulence ont révélé la présence du locus chromosomique *eae* incriminé dans ces lésions de type A/E [80] et même de la totalité de l'îlot de virulence prénommé "LEE" identifié sur les souches humaines.

Toutefois, si en Belgique et en Hollande, les souches O15 :H- sont prédominantes, elles ne sont que très rarement représentées en France, où l'on retrouve majoritairement le groupe des *E. coli* O103 [47].

2.2-2 *E. coli* O103 :H2 :K- : Confirmation et virulence d'une EPEC chez le lapin:

2.2-2 -1 Confirmation de la pathogénicité :

Dans le cas d'entérites observées dans les élevages, Renault et al. [86] ont isolé de lapins diarrhéiques, des colibacilles qui se sont révélés entéropathogènes lors de l'épreuve sur anse intestinale de lapin. Cependant, l'administration de ces souches à des lapins sains par voie orale, même à forte dose, n'a entraîné aucun trouble. L'obtention d'une multiplication colibacillaire dans le tube digestif n'a eu lieu que par la suite, il était nécessaire de recourir à des artifices tels que le bicarbonate de soude [74].

En 1982, Licois *et al.* ont induit expérimentalement une diarrhée sévère, de mortalité variable pouvant atteindre 100%, en administrant *per os* une souche colibacillaire O103 à la dose de 10^4 par animal et sans artifice supplémentaire sur des lapereaux âgés de 6 semaines et indemnes de coccidiose [87].

Par la suite plusieurs équipes de recherche ont reproduit également un syndrome diarrhéique, à partir de la même souche administrée à forte dose (10^7 à 10^{12}) avec une mortalité variant de 22 à 70% [88; 4; 89]

De plus aucun signe de maladie n'est obtenu lorsque l'on administre par les mêmes voies et aux mêmes concentrations une souche colibacillaire saprophyte du lapin [88] ainsi que d'autres travaux ont pu reproduire la pathologie avec d'autres sérogroupes tel que O-20, O-109 et O-132 [5].

2.2-2-2 Incidence en élevage:

La réalisation d'enquêtes épidémiologiques en France et en Espagne a révélé la nette prédominance du sérovars colibacillaire O103 : H2 : K- isolé sur 30 à 50% de lapins diarrhéiques [49; 47; 38].

D'autres sérogroupes de pathogénicité moins prononcée sont parfois isolés, tels que les sérogroupes O2, O128, O132, O85. Rappelons encore que le groupe O15 est épidémiologiquement négligeable en France.

Ces différents sérogroupes, affectant tous les lapins sevrés, ont des préférences marquées pour certaines catégories d'animaux (allaités vs. sevrés) [5]. Ainsi, les lapins âgés de 4 à 5 semaines seraient les plus sensibles à une infection par les *E. coli* du séro groupe O103 [60].

Toutes les classes d'âge peuvent cependant être touchées, et la transmission se fait par l'intermédiaire d'un animal porteur ou de l'environnement.

Les sérogroupes O128 et O132 peuvent être isolés sur des lapereaux à l'allaitement [48]. Toutefois, c'est le séro groupe O109 : H2 : K- qui touche principalement les lapereaux de 2 à 12 jours encore au nid [5].

Cette sensibilité du lapin face à la souche O103 a été étudiée par Licois *et al.*, [90] en révélant que les animaux peuvent être atteints quel que soit leur âge (diminution de poids observée) mais la mortalité est accrue sur des animaux plus jeunes, entre 4 et 5 semaines; alors que chez les lapins de plus de 6 semaines, la mortalité est rare. Dans tous les cas, l'implantation est précoce, dès le 4^{ème} jour post-infection à des taux atteignant 10^6 à 10^9 / g de fèces.

Peeters *et al.*, prouvent lors d'une reproduction expérimentale de la maladie la différence de tropisme des souches O103 suivant l'âge des lapereaux [49].

Outre le séro groupe, le biotypage se révèle un critère pertinent pour juger de la virulence d'une souche [48].

Les souches O103 : H2 : K- hautement pathogènes pour le lapin sevré sont Rhamnose négative (Camguilhem et Milon, 1989) ; en revanche, les souches appartenant au sérogroupe O103 mais non pathogènes fermentent le rhamnose ce qui souligne la forte corrélation entre le biovars et la pathogénicité de la souche O103. Toutes les souches O103 isolées en France sont mobiles [49].

2.2-2-3 Tableau clinique et lésionnel :

Les animaux amaigris présentent une diarrhée souillant l'arrière -train aqueuse et souvent hémorragique accompagnée d'une mortalité significative (20 à 30%). Les lésions sont caractérisées par une typhlite sévère ainsi qu'une congestion de la partie terminale de l'intestin grêle et du colon. La paroi du cæcum est oedématiée et la séreuse présente des piquetés hémorragiques. Le contenu cæcal est très liquide, parfois hémorragique [88; 4; 89; 47]. Les figures 2-3 et 2-4 présentent les organes affectés lors d'une colibacillose.

Ce tableau lésionnel s'accompagne d'une multiplication excessive de la flore colibacillaire et d'une alcalinisation du contenu cæcal (pH > 6,5) parallèlement à une diminution des AGV (réduits de 50%) [88 89]. L'effet inhibiteur de ces AGV face à la flore colibacillaire est alors altéré et n'entrave plus leur prolifération.

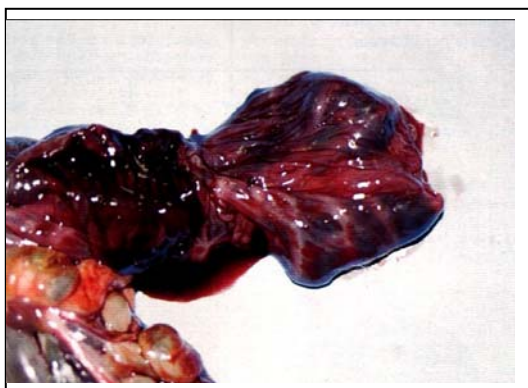


Figure 2-3: Lésions de colibacillose avec typhlite hémorragique [19]

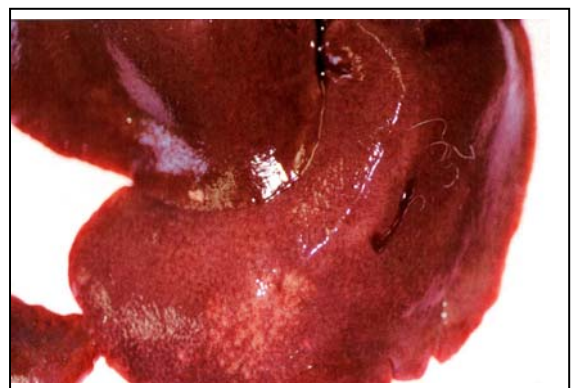


Figure 2- 4: Lésions de colibacillose avec foyers nécrotiques hépatiques [19]

L'histologie révèle un grand nombre de bactéries adhérant à l'apex des villosités au niveau de l'iléum et des foyers de destruction des cellules épithéliales.

Les replis muqueux révèlent de nombreux amas bactériens, témoins de la forte multiplication *in situ*. Les destructions épithéliales sont associées à des foyers hémorragiques et nécrotiques [89]. L'auteur souligne la corrélation positive entre la population d' *E. coli in situ* et la gravité des lésions.

Ces souches considérées comme non invasives (selon le Sereny Test), non productrices d'entérotoxines et adhérant aux entérocytes s'apparentent donc, comme la souche RDEC -1, aux EPEC en formant des lésions A/E [90].

2.2-2-4 Prophylaxie et application à la vaccination :

Les colibacilloses représentent un problème majeur en élevage cynicole, d'une part par les pertes économiques engendrées (pertes d'animaux, non-valeurs économiques, coût des traitements), et d'autre part par l'émergence de souches antibiorésistantes malgré que les particularités digestives et de la flore intestinale du lapin suggèrent une extrême vigilance dans le choix et l'usage des antibiotiques.

En effet, si certaines molécules (colistine, néomycine, fluméquine, enrofloxacin) permettent une relative mais temporaire maîtrise de la maladie, les traitements se révèlent le plus souvent longs et peu probants face aux souches très pathogènes. De plus, les nouvelles normes européennes imposent des réductions importantes de l'utilisation des antibiotiques dans les élevages cynicoles.

Les tentatives de prévention en agissant sur l'alimentation (acidification de l'eau de boisson, augmentation du taux cellulosique) n'ont eu aucun succès [89]. Reynaud *et al.* ont tenté, sans succès, d'utiliser un bactériophage lytique de O103 comme thérapie et prévention [91].

Ces considérations alliées aux connaissances génétiques actuelles ont conduit les scientifiques à considérer la vaccination comme unique mesure prophylactique envisageable.

Outre des cures médicamenteuses préventives et des mesures de prophylaxie sanitaire (procédés de désinfection, suppression des reproducteurs contaminés, stabilité de cheptel...), la vaccination est une piste intéressante. En effet, Deux équipes notamment, française et belge, travaillent à l'élaboration de vaccins respectivement contre les sérogroupes O103 [92; 93] et O15 [94; 95].

Plusieurs essais ont tenté la production d'un vaccin à partir de la souche O103:K-:H2 mais ils finissent à l'abandonner. Le vaccin soit, il n'induit pas une protection [89] ou son protocole est lourd [47] soit il présente une pathogénicité résiduelle [92].

Des essais de protection croisée ont également été réalisés avec différentes souches E.coli non pathogènes. Les résultats obtenus ont permis de conclure que les bactéries induisaient une réponse immunitaire protectrice et que la mise au point d'un vaccin efficace était possible [92].

Par la suite, un résultat encourageant et des avancées techniques se poursuivent dans le sens d'élaborer un vaccin vivant atténué applicable sur le terrain. [14].

La colibacillose O103 repose sur un schéma de contamination à partir d'animaux porteurs sains qui doivent être dépistés et éliminés (Figure 2-5)

L'excrétion fécale parfois massive de colibacilles souligne le rôle important d'un respect strict des mesures d'hygiène [69] ; qui grâce à leur complémentarité sur le terrain que l'assainissement des élevages pourra être amorcé [14].

En conclusion pour ce présent chapitre, les EPEC induisant sur le plan macroscopique des diarrhées et sur le plan microscopique des lésions caractéristiques d'A/E en mettant en jeu des facteurs de virulences complexes nécessitant des méthodes d'isolement et d'identification multiples qui permettent

de préciser le pathovar en cause ; pour cela un chapitre ultérieur est consacré pour le diagnostic de laboratoire.

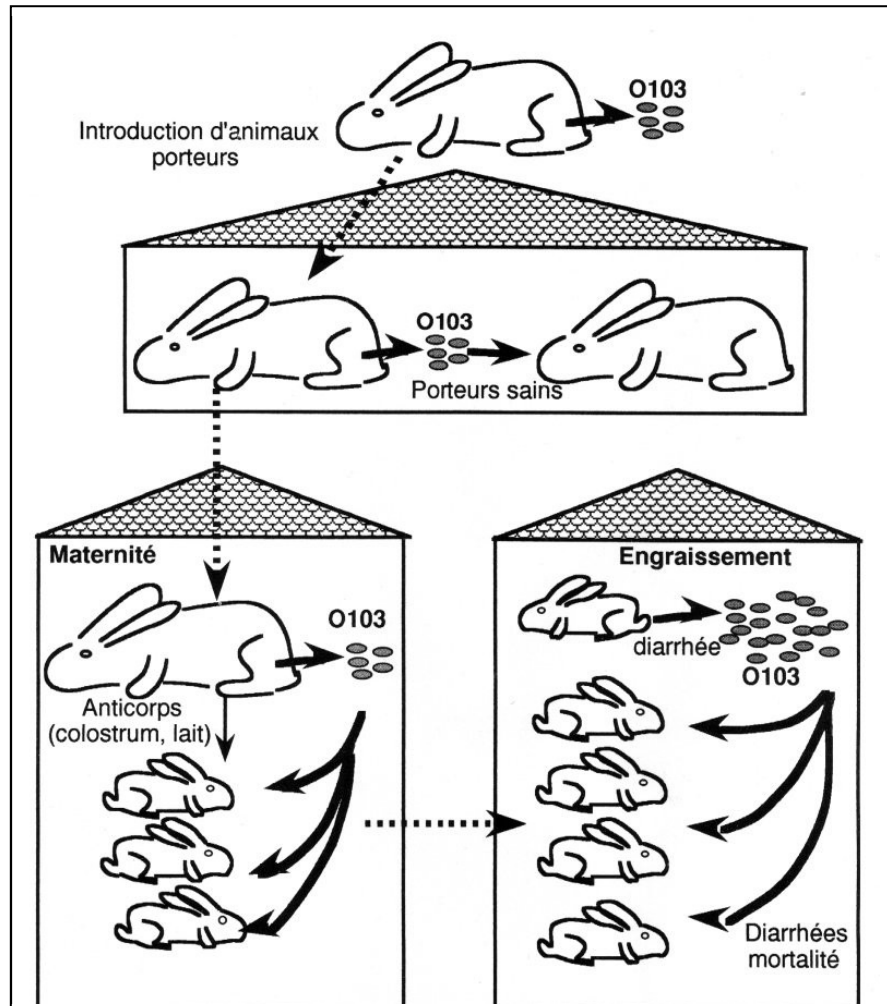


Figure 2-5: Hypothèses de diffusion des souches d'*E. coli* O103 dans les élevages [13]

CHAPITRE 3

METHODES D'ISOLEMENT ET D'IDENTIFICATION DES *ESCHERICHIA COLI* ENTEROPATHOGENES

3.1 Echantillonnage et sujets cibles :

L'échantillonnage concerne généralement les lapins sevrés (4 à 10 semaines d'âge) qui constituent la cible de la pathologie, néanmoins la section du pré sevrage (3ème et 4ème semaine d'âge) peut être visée [20]. Les lapins au nid (première semaine d'âge) ont été une cible d'étude de Peeters et ses collaborateurs dont le but d'étudier la pathogénicité des souches isolées et leur capacité d'induire des lésions d'A/E en les comparant avec celle des souches isolées de lapins sevrés [37]. Okerman et Devriese ont ciblé plusieurs tranches d'âge y compris les nouveaux nés (inférieur à 2 semaines d'âge) [48].

L'isolement et l'identification des souches *Escherichia coli* sont issus en générale de lapins atteints de diarrhées [89; 96; 97]; mais les sujets sains peuvent être étudiés. BLANCO et *al.* se sont basés pour leur étude sur 191 lapins diarrhéiques et 71 lapins sains [38]. Il est de même pour PEETERS et *al.*, un total de 568 souches incluses pour leur recherche dont l'origine est variée ; des sujets sevrés sains et d'autre malades qui font partie aux différentes sections d'élevage [37].

Remarque: Le sevrage peut être effectué entre 30 et 35ème jours d'âge.

3.2 Prélèvement:

D'autant que la colibacillose est une maladie touchant le système digestif, les prélèvements sont alors issus de ce système:

3.2-1 Prélèvement d'organe:

Plusieurs organes peuvent être prélevés: le ceacum [5 ; 21 ; 38 ; 96], le foie [96], la partie jujeno-iléale de l'intestin grêle [98; 96] et la contenu gastrique [39].

Le moment du prélèvement doit être le plus tôt possible après la mort de l'animal pour éviter des faux résultats suite à une prolifération bactérienne sous l'action des inflammations du tractus digestif (les intestins); le sacrifice des sujets reste le prélèvement de choix [67; 39].

3.2-2 Prélèvement fécal:

Les matières fécales sont un prélèvement de base dans le cas d'une colibacillose chez plusieurs espèces animales tel que; les bovins [57; 53; 44; 99], le porc [64; 45] et le poulet [100].

Chez le lapin, les crottes dures prélevées en vue d'être examiner doivent être fraîches (<24h), stockées dans des boites ou sacs stériles et transportées directement vers le laboratoire [38; 70; 100].

L'étude de la colibacillose du lapin (ou même d'autre espèce) est basée sur la réalisation de prélèvements sur les mêmes individus et plusieurs fois par semaine. Boulier et al., ont suivis différents groupes de lapins sevrés à 32 jours, chaque groupe est destiné pour un objectif déterminé mais le prélèvement des matières fécales concerne tous les groupes et trois fois par semaine pour une période de 28 jours[93]. En Italie, Skrivanova et al. ont examinés 4 fois par semaine les vécés des lapins ciblés; à savoir le 2ème, 5ème, 7ème et le 13ème jour après l'infection [39].

3.3 Diagnostic de laboratoire :

3.3-1 Etude histologique:

Elle consiste à examiner des coupes du tractus digestif, la jonction juno-iléale et le ceacum sont les plus recherchés. L'étude histopathologique se fait par:

- Microscopie optique ou Light microscopy (LM) [79]:

Les observations microscopiques lors d'une infection à *E.coli* entéropathogènes montrent un amas de bactéries en contact de la lignée épithéliale avec un processus de desquamation [90] contrairement à celle obtenues après une infection à *E.coli* entérotoxigènes où la membrane de la bordure en brosse est continue et l'inflammation n'est pas mise en évidence [101].

- Microscopie à fluorescence: Il permet de détecter le type d'adhésion (localisé, diffus ou mixte) des bactéries adhérentes [102; 79; 70].

- Microscope électronique à transmission ou Transmission electron microscopy (TEM):

L'histologie révèle une destruction de la bordure en brosse suite à une adhérence intime aux cellules épithéliales prouvant la présence du AF-R1 et dommage du cytosquelette traduit par une concentration élevée d'actines polymérisées. Les cellules épithéliales sont allongées avec un noyau sphérique, le pôle apical est gravement altéré. et la membrane cytoplasmique présente des invaginations. On note aussi un processus inflammatoire prononcé, oedème intense et la lamina propria est infiltrée par des leucocytes polymorphonucléaires. [80; 90 ; 102; 79].

- Microscope à balayage ou Scanning electron microscopy (SEM):

Les coupes histologiques de l'intestin montrent des muqueuses fortement altérées et les bactéries se sont agrégées, empilées les unes sur les autres et couvertes à leur place par du mucus. La surface de la muqueuse caecale est colonisée par un nombre élevé de bactéries qui adhèrent intimement et s'attachent à l'épithélium [90].

3.3 -2 Etude bactériologique:

3.3-2-1 Enumération colibacillaire:

Après homogénéisation des fèces, les dénombrements bactériens sont effectués par la technique de dilution étalement sur des géloses sélectives aux entérobactéries incubées à 37°C pendant 24h:

- Sur Drigalski:[14] ;
- Sur Mac Conkey :[102; 103; 93] ;
- Sur Hectoene :[96] ;
- Sur Eosine Bleu de Méthylène (EMB): [99].

L'énumération colibacillaire peut se faire à partir du sang. Au laboratoire deux numérations de *E.coli* sont effectuées, l'une à partir de sang pur et la deuxième à partir d'une dilution de sang à 10^{-2} dans une solution de Ringer [89]

Toute augmentation de la flore colibacillaire au delà de 10^4 ufc d'*E.coli* par gramme du contenu caecale est anormale chez le lapin [2].

3.3-2-2 Méthodes classiques d'identification des *Escherichia coli* :

Les techniques classiques ou encor traditionnelles de la microbiologie pasteurienne reposent sur l'isolement, la purification et l'identification.

- Examen biochimique:

Les colonies suspectes obtenues dans l'étape précédente seront purifier pour subir ensuite une série de test biochimiques.

Les caractéristiques les plus importantes d'*Escherichia coli* sont: Lactose+, gaz+, test ONPG+, indole+, citrate de Simmons -, VP- [104].

D'autres types d'examens biochimiques du contenu caecal peuvent être étudiier tel que le pH, la concentration des AGV, la concentration de l'azote ammoniacal et les proportions de butyrate et d'acétate [89; 18].

- Sérotypage:

Il s'agit de rechercher la présence des antigènes O, K et H selon la méthode de Guinée et *al.* 1981 avec tous les antisérums O présents (O1 à O171) et H (H1 à H56) puis antisérum O:K spécifique pour l'antigène K habituellement associé avec chaque antigène O.

- Biotypage:

Il s'agit de l'étude de la fermentation des carbohydrates sur une gélose au rouge phénol supplémentée de 1% du sucre approprié. Chaque sucre a un score (chiffre) qu'on lui donne dans le cas d'une réaction positive (on estime un score de 0 pour un test négatif); le biotype d'une souche est un chiffre obtenu par l'addition des scores correspondants aux sucres étudiés [48].

Parmi les carbohydrates étudiés, le **L-rhamnose** est le plus important. Une souche qui ne fermente pas ce sucre est dite "Rham –", est considérée comme une souche hautement pathogène [48; 47; 60].

Certains biotypes sont spécifiques aux souches isolées de lapins nouveaux nés malades alors que d'autres biotypes sont propres aux lapins sevrés [47].

- Antibiogramme:

La sensibilité aux différents antibiotiques a été étudiée par diffusion en gélose Mueller-Hinton, selon la méthode des disques sur des boîtes de Pétri stériles. Actuellement normalisée selon les NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) [105; 106].

3.3-2-3 Méthodes rapides d'identification des *Escherichia coli* :

- ELISA: utilisée pour la détection des anticorps spécifiques contre des souches d'*Escherichia coli* enteropathogènes (EPEC) [107].
- PCR: hybridation sur colonies ou polymerase chain reaction.
- REP-PCR: Repetitive Extragenic Palindromic-PCR.

Les surnageants (PCR) ou les fragments d'hybridation (REP-PCR) seront utilisés pour la recherche, dans chaque souche, des gènes de pathogénicité eae [98; 108], l'intimine et Tir[79; 108], AF/R1 et AF/R2 [98], l'analyse du locus LEE [81;96], des gènes de résistance pour les aminosides, pour le triméthoprim et pour les sulfonamides [80] et l'étude de la similarité des souches [97].

3.3-3 L'infection expérimentale:

Il s'agit de l'inoculation des lapins par une dose suffisante de bactéries entéropathogènes, généralement entre 10^4 et 10^9 UFC par ml, une dose de 0.5ml à 2ml est alors introduite par voie orale [48; 47].

Un suivi de l'état corporel, taux de morbidité, taux de mortalité et les signes cliniques doivent être enregistrés [49].

L'infection doit reproduire: les symptômes typique de la colibacillose à *Escherichia coli* entéropathogènes, l'examen histologique ainsi que bactériologique [37; 51].

Nous pouvons conclure que le diagnostic de la colibacillose qui se base uniquement sur l'examen clinique n'est qu'une approche visuelle. Une confirmation par un diagnostic de laboratoire mettant en jeu des techniques d'identification et de précision peut sans doute valoriser les recherches sur le terrain.

CONCLUSION DE LA PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Notre synthèse bibliographique nous a mené à conclure que seule la pauvreté de la flore colibacillaire devrait être retenue comme caractéristique constante de la flore caecale des lapins: les autres points pouvant varier fortement d'un animal cliniquement sain à l'autre. Les particularités anatomiques, digestives et biologiques font du lapin une espèce sensible à toute perturbation qui pourrait générer des troubles digestifs.

Le dysfonctionnement de la motricité digestive peut être lié à des causes non spécifiques (transport, nutritionnelles, zootechniques) ou spécifiques (antibiotiques, bactériennes, virales, parasitaires (coccidies)) isolées ou associées, induisant des diarrhées colibacillaires ou autres.

Les affections digestives constituent la cause essentielle de la morbidité et de la mortalité, chez le lapin de chair en croissance surtout chez les jeunes lapins après le sevrage (4 à 10 semaines). Les étiologies de ces affections restent encore parfois difficiles à établir car les signes cliniques ne sont pas pathognomoniques. L'un d'entre eux, la diarrhée, est largement dominant qui revêt une importance économique grave. Les agents causals (bactériens, parasitaires, virales ou d'origine inconnue) se regroupent sous le nommée « Syndrome Diarrhéique ».

La colibacillose en élevage cunicole, qui se diffère de la colibacillose du sevrage, est essentiellement due aux *Escherichia coli* appartenant à la catégorie des EPEC. Elles sont capables de la formation de lésions d'attachement/effacement ainsi certaines souches telles que O103 et O15 sont extrêmement virulentes. L'impact économique induit par cette pathologie a suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs qui ont réussi grâce aux différentes méthodes microbiologiques classiques et moléculaires de déterminer les différents facteurs de virulence de ces souches pathogènes, et de tenter des protocoles de vaccination concernant ainsi la colibacillose des lapins en croissance.

CHAPITRE 4

PARTIE EXPERIMENTALE

4.1 Problématique :

La colibacillose en élevage cunicole est responsable de pertes économiques importantes rapportées par plusieurs travaux à l'étranger dont plusieurs sérotypes reconnus pathogènes ont été isolés [4 ; 13; 38 ; 39].

Au Maghreb, la cuniculture est un secteur récent [109 ; 110 ; 111] ; Les approches menées concernent généralement l'alimentation [112], l'étude des races [113] et la reproduction [114]; par contre celles des pathologies s'est limitée à l'EEL au Maroc [115] et la cooccidiose en Algérie [116] mais la colibacillose n'a jamais fait l'objet d'une recherche.

L'étude de cette maladie et sa relation avec nos élevages a fait l'objet de ce travail qui s'est déroulé durant la période allant de février à juillet 2010 au niveau du laboratoire de microbiologie médicale vétérinaire de l'université Saad Dahleb, et qui a visé les objectifs suivants :

- Connaître la place du syndrome diarrhéique dans nos élevages ;
- Connaître le taux des diarrhées et de mortalité en post sevrage ;
- Isoler et identifier les espèces d'*Eschérichia coli* à partir des élevages de lapins en post sevrage dans le but de déterminer leur rôle dans le syndrome diarrhéique et de tester leurs sensibilités aux antibiotiques choisis.

4.2 Matériel et méthodes :

Notre travail expérimental s'articule autour de trois parties:

1. Enquête par questionnaire.
2. Suivi sanitaire.
3. Analyses bactériologiques: Dénombrement de la flore colibacillaire, identification de l'espèce *Escherichia coli* et l'étude de la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques.

4.2-1 Enquête par questionnaire

Selon les informations recueillies auprès des subdivisionnaires ; il n'y a qu'un seul élevage déclaré au niveau de la wilaya de Blida et qui dépend de la subdivision de Boufarik. De plus, selon leurs informations, il ne s'agit que d'élevages de type familial. Ce n'est qu'à partir de ces informations que nous avons envisagé une enquête sur le terrain par questionnaire destiné aux vétérinaires praticiens privés visant l'objectif suivant :

Est-ce que les affections à *Escherichia coli* sont suspectées dans le diagnostic du syndrome diarrhéique ?

Matériel :

Après avoir présenté notre propos, notre questionnaire a porté sur six questions dont trois mixtes, deux fermées et une ouverte. Le vétérinaire doit cocher la case de son choix.

Le questionnaire est destiné aux vétérinaires praticiens privés de la wilaya de Blida.

Méthodes:

Nous avons favorisé la méthode "face à face" pour la réalisation de notre questionnaire en ciblant les cabinets vétérinaires des différentes régions de la wilaya de Blida.

Le but a un double volet; d'une part pour mieux expliquer notre objectif tout en évitant des confusions de compréhension. D'autre part, le face à face nous a permis d'éclaircir nos idées sur le travail du praticien dans ce type d'élevage et ainsi, d'obtenir les coordonnées des éleveurs cunicoles puisqu'il n'est pas possible de l'avoir d'une façon officielle.

Le téléphone était le deuxième moyen pour la réalisation du questionnaire pour certains vétérinaires en raison de leurs déplacements courants. Il est important de s'assurer que le questionné est libre pour un moment suffisant pour présenter notre questionnaire.

Le nombre de vétérinaires questionnés: D'après la direction des services vétérinaires (DSV), le nombre de vétérinaires exerçant est de 60 sur 102 enregistrés. Le nombre de vétérinaires qui ont participé avec nous pour la réalisation de notre travail est de 30.

4.2-2 Suivi sanitaire :

Notre objectif est de recouper les observations du terrain (symptômes diarrhéiques et mortalité en élevage étudié).

4.2-2-1 Elevages et animaux:

Trois élevages ont été ciblés pour la réalisation des prélèvements fécaux. Le premier élevage situé à Boufarik, le deuxième à Maramen et le troisième à El Affroun (Figure 4.1).

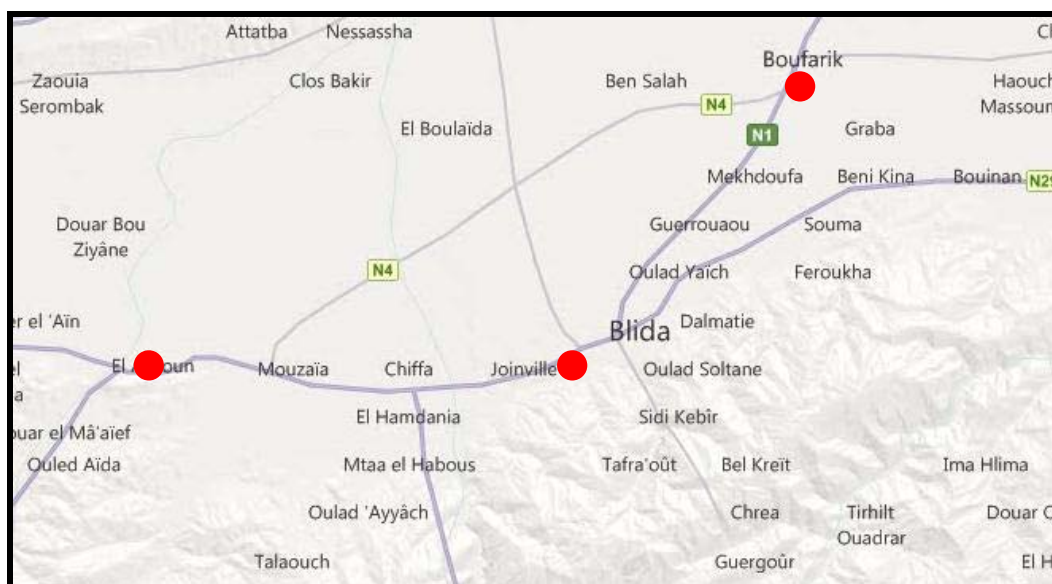


Figure 4.1 : Carte géographique représentant les lieux des élevages étudiés

Les animaux utilisés au cours de notre expérimentation (mâles et femelles) sont tous issus de races importées croisées (Californienne ou Néo-Zélandaise) (Figure 4.2). Les seuls critères de choix étaient : un âge homogène (lapereaux au sevrage effectué à 32 ± 02 jours), un poids en moyenne de $765g \pm 40$ et un bon état sanitaire.



Figure 4.2: Lapin néo-Zélandais blanc au sevrage (photo personnelle)

4.2-2-2 Bâtiments d'élevage :

Les trois bâtiments d'élevage étaient construits en dur et possèdent une charpente de type métallique. L'aération statique est assurée par des fenêtres (type vasistas) placées des deux côtés du bâtiment. En plus des fenêtres, les clapiers sont éclairés à l'aide des néons. La température et l'hygrométrie, contrôlées quotidiennement respectivement à l'aide d'un thermomètre et d'un hygromètre, étaient en moyenne de 19°C et 70%.

Au sevrage, les lapereaux issus de chaque portée (9 ± 2 lapereaux) ont été transférés de la cage de maternité à la cage d'engraissement.

Toutes les cages sont munies de mangeoires individuels, et de tétines automatiques pour l'abreuvement. L'échantillonnage au sein de chaque site d'élevage est de 05 cages prises au hasard. Au total, 97 lapereaux ont été utilisés (30 à Boufarik, 35 à Maramen et 32 à El-Affroun).

4.2-2-3 Alimentation et abreuvement :

Durant toute la réalisation de cette expérimentation, les animaux étaient nourris *ad libitum*. L'alimentation comprenait un granulé spécial pour lapin provenant de la même unité de fabrication de l'aliment de bétail. Il est composé de maïs, de tourteau de soja, de luzerne, de son, de calcaire, de phosphate bicalcique et de CMV spécial lapin.

Au cours de notre partie expérimentale, nous avons su que les éleveurs tentent toujours des artifices pour diminuer les taux de diarrhées et les mortalités. L'abreuvement constitue la différence et la caractéristique pour nos élevages ; nous avons découvert trois différents cas:

- Elevage1 (Boufarik): l'éleveur ajoute quotidiennement une "petite quantité" d'un désinfectant des locaux dans l'eau de boisson des lapins.
- Elevage 2 (Maramene): un ajout quotidien du vinaigre dans l'eau de boisson
- Elevage 3 (El-Affroun):L'usage d'un anti-stress à base d'anti-biotiques dans l'eau de boisson pendant toute la période du sevrage est une autre solution appliquée sur le terrain. IL semble que l'éleveur arrête son utilisation 2 ou 3 jours avant la vente ou l'abattage des lapins.

4.2-2-4 Suivi d'élevage :

Des fiches de suivi ont été établies pour chaque clapier (Clf : appendice B) et ont concerné les point suivants :

- Le nombre de lapines reproductrices.
- Le nombre total des lapins sevrés par portée.
- Le nombre de lapins sevrés et suivis dès le premier jour (j1).
- Le nombre de lapins jusqu'au trentième jour de suivi (j30)

- Mentionner la date exacte de l'absence ou la présence des diarrhées.
- Mentionner la date des cas de mortalité.
- Nombre total des cas diarrhéiques et de mortalité.

4.2-3 Etude bactériologique :

Après la réalisation des prélèvements, les différentes étapes de l'étude bactériologique ont été réalisées au niveau du laboratoire de recherche de microbiologie médicale de la faculté agrovétérinaire de l'Université Saad-Dahleb de la wilaya de Blida .

Les différentes étapes de l'étude bactériologique ont été regroupées sur la figure n° 4. 3.

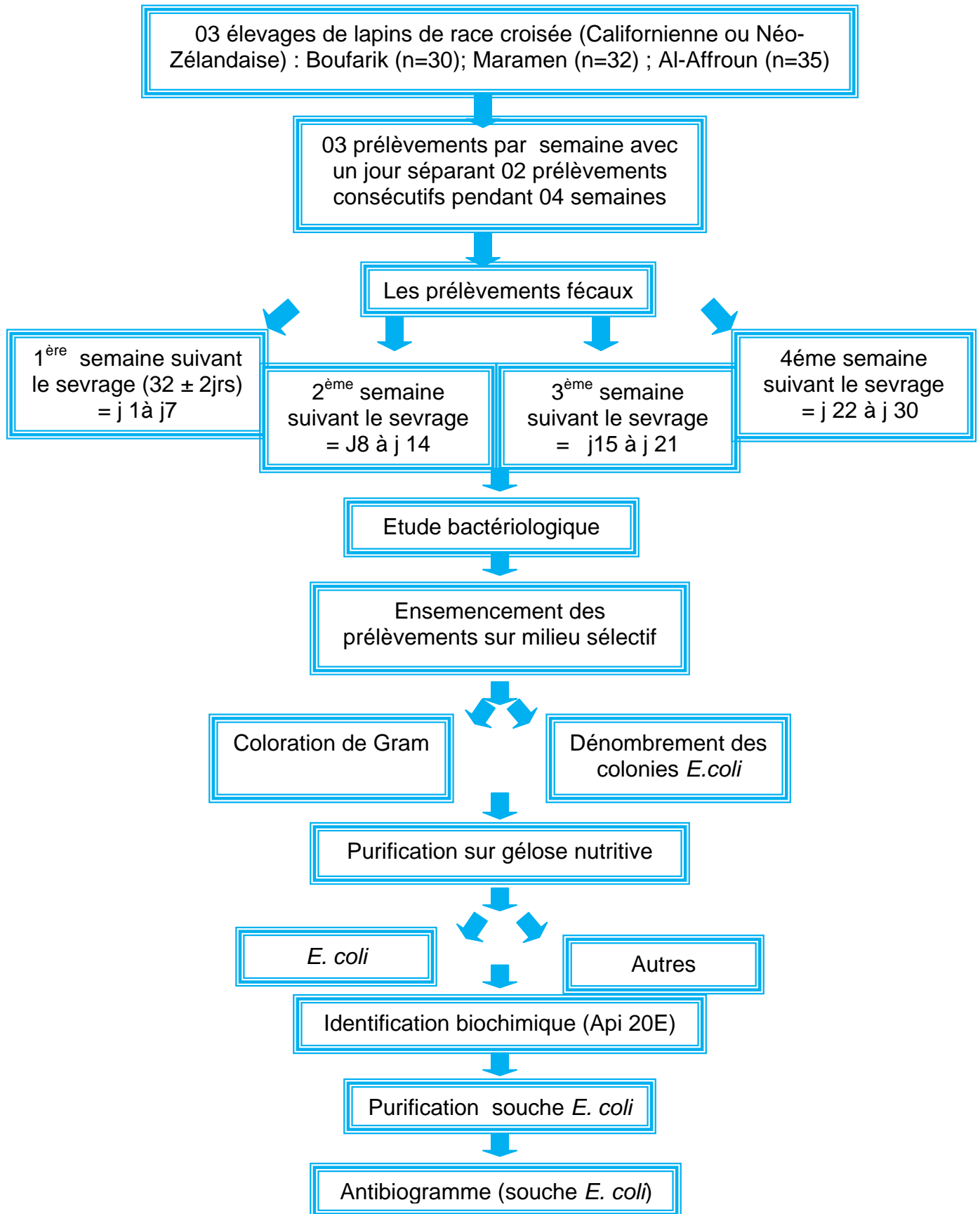


Figure 4.3: Logigramme du processus bactériologique

4.2-3-1 Prélèvements microbiologiques:

Les crottins frais (<24 heures) ont été utilisés pour les analyses bactériologiques. La veille du jour du prélèvement, des filets ou des sacs solides en plastique ont été placés sous les cages afin de collecter les crottins. Les prélèvements ont été réalisés de la même manière dès la première semaine suivant le sevrage, trois fois par semaine pendant 04 semaines et avec un intervalle d'un jour entre deux prélèvements successifs.

Tous les prélèvements sont acheminés vers le laboratoire dans une glacière à 4°C pour des analyses microbiologiques ultérieures.

4.2-3-2 Examen bactériologique :

Pour la réalisation de cet examen, un ensemble de matériel non biologique a été utilisé (Clf : appendice H).

Un total de 180 prélèvements, issu des trois sites, a été analysé et a subi les étapes suivantes :

- Numération de la flore colibacillaire

Il s'agit d'une énumération sélective selon la méthode des dilutions étalement en surface selon le protocole décrit par Camguilhem [4].

Pour environ 2 grammes de prélèvement (fèces ou contenu caecal) on ajoute 9 fois le poids (volume) en eau physiologique pour obtenir la première dilution au 1/10ème. Nous effectuons par la suite des dilutions successives au dixième, jusqu'à 10^{-7} en prélevant à chaque fois 1ml et en ajoutant 9ml d'eau physiologique stérile.

A partir de chaque dilution, 0.1ml de la solution bactérienne est étalée à la surface du milieu Mac Conckey ou Hectoene (Institut Pasteur,

Alger,Algérie).L'incubation est de 24 heures à 37°C. Après incubation nous entamons le dénombrement en choisissant les boîtes contenant environ de 30 à300 colonies (Clf. appendice C).

La morphologie des colonies colibacillaires sur milieu Mac-Conkey est typique: elles apparaissent rouge intense entourées d'un halo trouble (figure 4.4). Sur milieu Hektoene, elles apparaissent jaune saumon (figure 4.5).

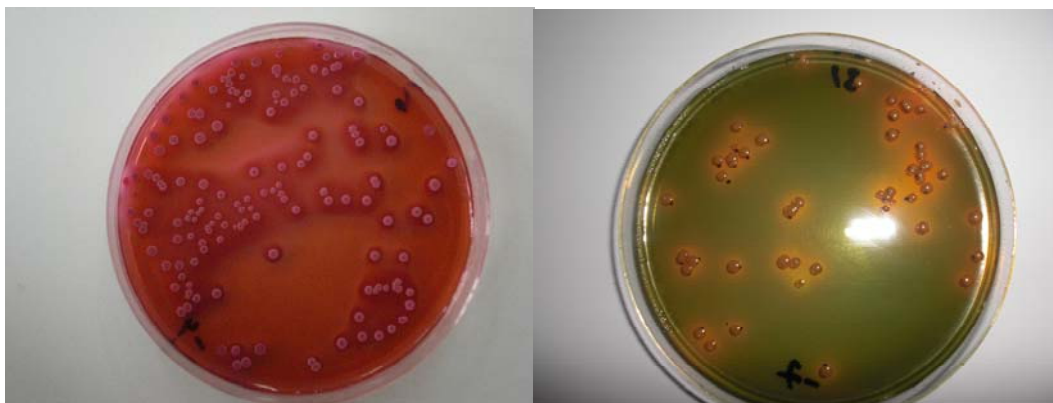


Figure 4.4 :
Colonie caractéristique de *E.Coli* sur
Mac-Conkey (photo personnelle)

Figure 4.5 :
Colonie caractéristique de *E.Coli* sur
Hektoene (photo personnelle)

La flore colibacillaire (n) est estimée après comptage direct du nombre de colonies suspectes et caractéristiques des *Escherichia coli* sur la boîte de Pétri selon la formule de Fabiani en 1974 [109]:

$$n = \frac{(N_1 + N_2 + N_3 + \dots)}{(1 + 1/10 + 1/100 + 1/1000 + \dots)}$$

Où N1, N2, N3, etc. correspondent au total des colonies comptées respectivement pour les dilutions 1/10, 1/100, 1/1000, etc.

- Identification bactérienne

A partir des boîtes contenant des colonies caractéristiques de l'espèce *Escherichia coli*, nous entamons l'identification bactérienne en prélevant au moins trois colonies identiques qui vont subir après purification sur gélose nutritive (GN) les deux étapes suivantes:

- La coloration de Gram (Clf. Appendice D) : le but est de confirmer la présence de bacilles Gram négatif qui prennent une couleur rose.
- Identification biochimique: à partir d'une colonie caractéristique on procède à l'étude des caractères biochimiques en utilisant la galerie Api -20E (BioMérieux, Réf.20 100). L'incubation est de 18 à 24 heures à 37°C.

Pour s'assurer que nous avons ciblé les bonnes colonies, nous avons réalisé les mêmes étapes précédentes pour les colonies douteuses et /ou non caractéristiques de *E.coli*.

- Antibiogramme

Après une étude des caractères biochimiques, un antibiogramme est systématiquement réalisé pour chaque souche *Escherichia coli* isolée, selon la technique des disques recommandée par NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) [105; 106] et selon la standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire pour les bactéries non exigeantes[110]: ensemencement par écouvillonnage sur des boîtes de Pétri stériles préalablement coulées au milieu Mueller-Hinton (Institut Pasteur, Alger, Algérie) à partir d'un inoculum de 0.5 Mc Farland, l'incubation est de 18 à 24 heures à 37°C.

Huit antibiotiques (Oxoid) sont utilisés: ampicilline (AMP: 10µg), amoxicilline (AM:20 µg), triméthoprime- sulfaméthaxazole (SXT:25µg), fluméquine (FUM: 30 µg), colistine (CS:10 µg), gentamycine (GEN:10 µg), streptomycine (STR:10 µg) et tétracycline (TET:30 µg). L'interprétation des diamètres des zones d'inhibition est réalisée selon les recommandations

déterminées par le guide de la standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire [110] ainsi présenté dans l'appendice E

Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée. Les diamètres sont comparés à ceux de la souche de référence ATCC 25922 pour les mêmes antibiotiques (appendice E).

Il est à noter que la réalisation de cette étape a été effectuée au niveau du laboratoire centrale de l'hôpital Nafissa Hammoud d'Alger (Ex Parnet), ainsi le control de qualité du milieu Mueller-Hinton, les antibiotiques et les réactifs a été réalisé systématiquement

4.2-4 Etude statistique :

Le traitement statistique des données et les présentations graphiques ont été réalisés à l'aide de logiciel Microsoft Office Excel 2007. L'analyse statistique n'a concerné que l'étude bactériologique. Les données ont été comparées au seuil de 5% par une analyse de la variance et l'application d'un test paramétrique « test de Student ».

4.3 Résultats :

4.3-1 Etude du questionnaire :

- Le vétérinaire et la cuniculture :

Nous avons jugé qu'il est important de savoir tout d'abord si la cuniculture fait partie des filières animales suivies par le vétérinaire.

Les résultats concernant le suivi des pathologies cunicoles par les vétérinaires praticiens sont regroupés dans le tableau 4.1 et illustrés dans la figure 4.6.

Tableau 4.1: Estimation du nombre et % des vétérinaires rencontrant ou non des pathologies en cuniculture

Réponses	Oui	Non	Total
Nombre de vétérinaire	26	04	30
Pourcentage (%)	86,67	13,33	100

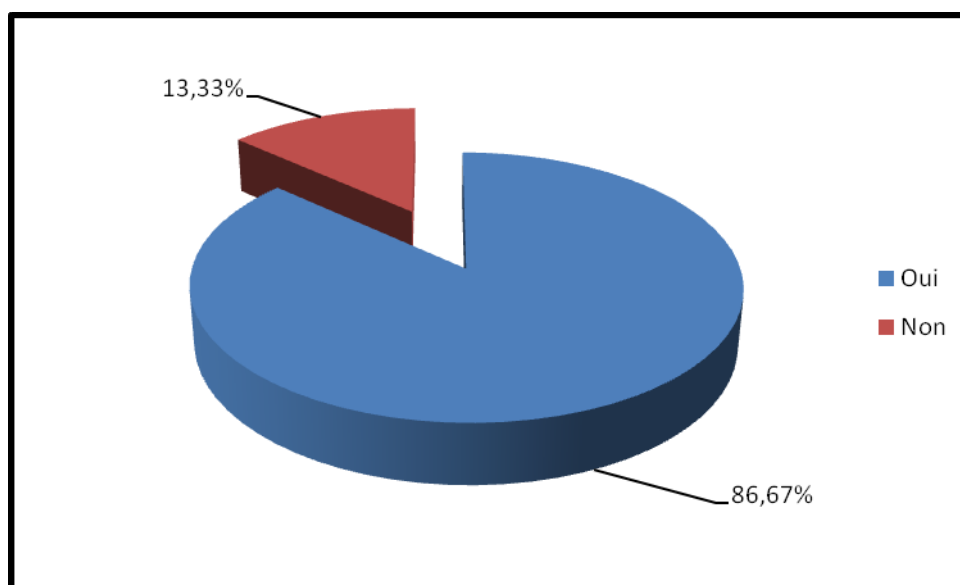


Figure 4.6 : représentation des pourcentages des vétérinaires rencontrant ou non des pathologies d'élevages cunicoles

Le traitement des résultats a permis de savoir que l'élevage cunicole dans notre région n'est pas marginalisé. En effet, 86,67 % des vétérinaires font face à des pathologies touchant le lapin contre 13,33% seulement qui ne rencontrent pas celles-ci. Ces derniers représentent les vétérinaires qui ne s'intéressent pas à la cuniculture ou ceux qui n'ont pas eu affaire à ce type d'élevage.

De plus, le nombre d'élevages touché par les différentes pathologies varie d'un praticien à l'autre, selon la région et l'expérience, il se situe entre 2 et 30 clapiers ce qui fait que chaque vétérinaire a consulté au minimum 2 élevages.

- Les pathologies d'élevage :

Les différentes pathologies rencontrées par les vétérinaires praticiens au niveau des élevages sont regroupées dans le tableau 4.2 et illustrées dans la figure 4.7.

Tableau 4.2 : Les pathologies d'élevages selon le témoignage des vétérinaires

Type de pathologie	Nombre des vétérinaires	Pourcentage (%)
Digestive	06	23,08
Respiratoire	02	7,69
Parasitaire	03	11,54
Digestive + Parasitaire	13	50
Respiratoire + Digestive	02	7,69
Total	26	100

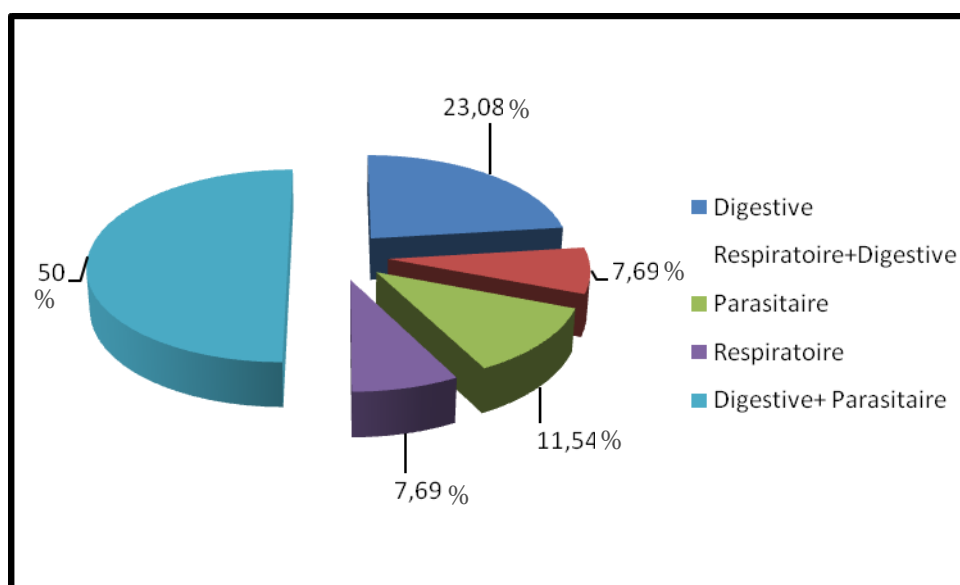


Figure 4.7 : Implication des différentes pathologies en cuniculture

L'étude des résultats a permis de distinguer cinq différents groupes de pathologies et selon leur importance sur le terrain ils se présentent comme suit: pathologies digestives et parasitaires (50%), uniquement digestives (23.07%),

seules les maladies parasitaires (11.53%), respiratoires (7.69%) et finalement respiratoires et digestives (7.69%).

Il est important de signaler que les pathologies parasitaires rencontrées sont d'ordre dermatologique (principalement la gale).

A partir de là, les vétérinaires qui ont signalé uniquement la pathologie respiratoire ou la pathologie parasitaire ne peuvent plus répondre à la suite de notre questionnaire.

- Le syndrome diarrhéique et l'élevage de lapin :

Le tableau 4.3 regroupe les réponses des vétérinaires concernant l'absence ou la présence de syndrome diarrhéique au sein des élevages cunicoles ; puis les résultats sont illustrés sur la figure 4.8.

Tableau 4.3 : Implication du syndrome diarrhéique selon les vétérinaires (Nbre et %)

Syndrome Diarrhéique	Oui	Non	Total
Nombre de vétérinaire	19	02	21
Pourcentage (%)	90,48	9,52	100

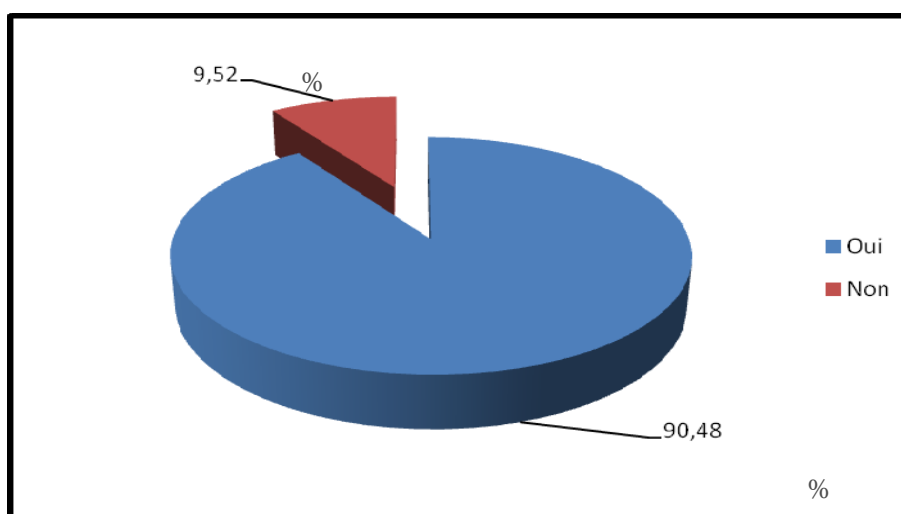


Figure 4.8 : Situation du syndrome diarrhéique en élevages cunicoles

Les résultats de notre enquête montrent que, 90.48% des vétérinaires praticiens rencontrent le syndrome diarrhéique contre 9.52% des vétérinaires, qui observent des problèmes digestifs sans diarrhée.

- Agents causals du syndrome diarrhéique :

Les différents agents causals du syndrome diarrhéique selon les réponses des vétérinaires sont regroupés dans le tableau 4.4 et illustrés dans la figure 4.9.

Tableau 4.4 : Les différents agents causals du syndrome diarrhéique selon les réponses des vétérinaires

Agents causals	Nombre des vétérinaires	Pourcentage (%)
Bactérien	04	21,05
<i>E.coli</i>	01	5,26
Parasitaire	01	5,26
Alimentaire	04	21,05
Bactérien+Alimentaire	01	5,26
Bactérien+ <i>E.coli</i>	03	17,78
Bactérien +Parasitaire	05	26,31
Total	19	100

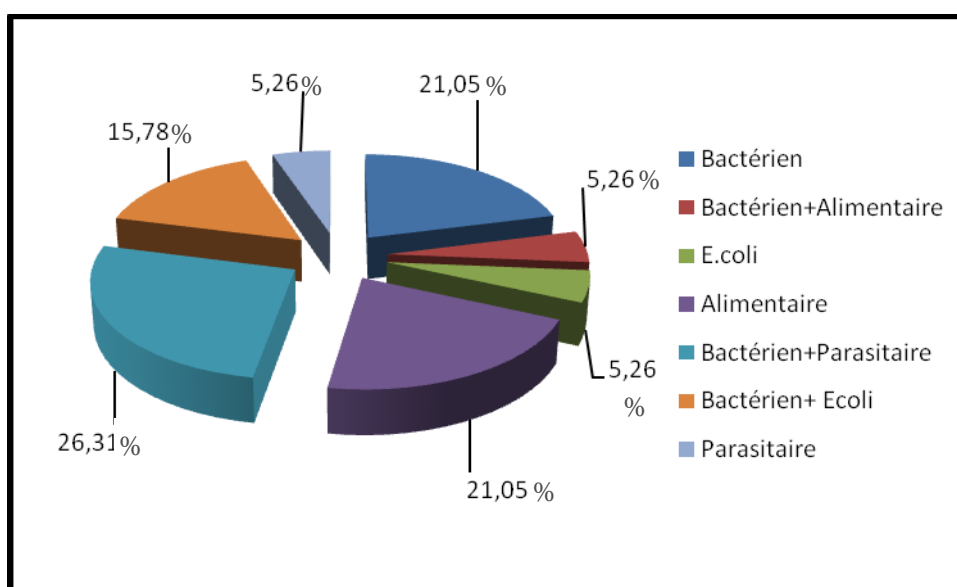


Figure 4.9 : Implication des différents agents causals dans le syndrome diarrhéique

Nos résultats révèlent des différents groupes: la majorité des vétérinaires accuse l'agent bactérien et parasitaire (26.31%), alors qu'un pourcentage de 21.05% est obtenu pour deux groupes; ceux qui visent l'agent bactérien et d'autres pour le facteur alimentaire. Le quatrième groupe selon l'ordre d'importance est celui impliquant l'agent bactérien et l'espèce *Escherichia coli* avec un pourcentage avoisinant les 15.80%. Trois autres groupes offrent le même pourcentage (5.26%) pour des différentes suspicions: l'agent parasitaire seul, l'espèce *E.coli* seule et finalement l'agent bactérien et alimentaire.

- Le diagnostic et la confirmation :

Les différents moyens du diagnostic de syndromes diarrhéique sont regroupés dans le tableau 4.5 et illustrés dans la figure 4.10.

Tableau 4.5 : Les moyens du diagnostic du syndrome diarrhéique selon les réponses des vétérinaires

Les moyens de diagnostic	Nombre de vétérinaire	Pourcentage
Signes cliniques	09	47,37
Autopsie	06	31,51
Laboratoire	00	00
Signes clinique + autopsie	04	21,05
Total	19	100

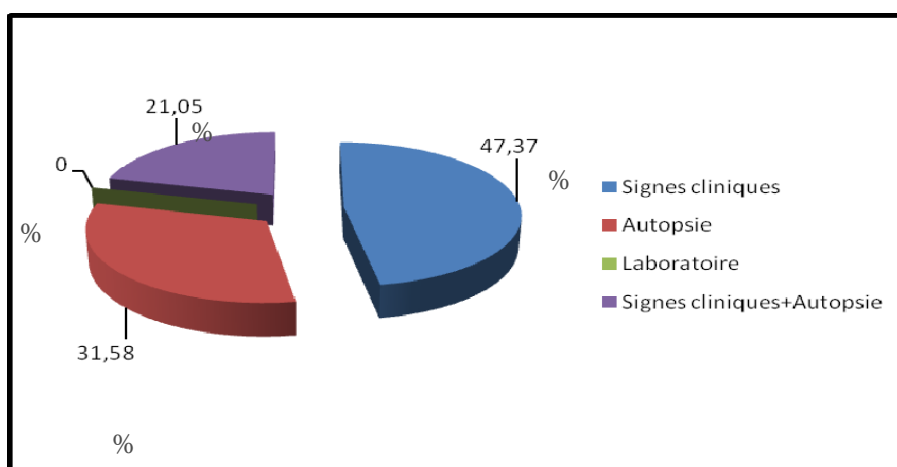


Figure 4.10 : Pourcentages des différents moyens de diagnostic du syndrome diarrhéique

Les réponses à cette question ont permis le classement des moyens du diagnostic du syndrome diarrhéique comme suit: plus de 45% des vétérinaires se basent, lors de leur diagnostic, uniquement sur les signes cliniques alors que 31,57% des praticiens font appelle à l'autopsie. Une étude des symptômes complétée par une autopsie est une issue pour 21,05% des vétérinaires. En dernier, le laboratoire n'est jamais un moyen de diagnostic ou de confirmation.

- Le traitement des pathologies:

Les différents types de traitement utilisés par les vétérinaires praticiens sont regroupés dans le tableau 4.6.

Tableau 4.6 : Les différents traitements utilisés face à des pathologies digestives

Les traitements	Nombre de vétérinaire	Pourcentage
Des antibiotiques à prescrire	12	63,16
Des antibiotiques à proscrire	07	36,48
Antiparasitaire (maladies digestive d'origine bactérienne)	00	00
Antiparasitaire (maladies digestive d'origine parasitaire)	06	32,10
Antibiotiques + Corrections zootechniques	04	21,05

En filtrant les réponses, les résultats sont les suivants:

Antibiothérapie : est le seul recours lors du syndrome diarrhéique d'origine bactérien. Nous avons noté une utilisation d'antibiotiques à proscrire (36,48%) chez le lapin contre 63,15 % utilisant des antibiotiques recommandés chez cette espèce. Ces antibiotiques peuvent être accompagnés ou non d'anti-inflammatoires.

Les antiparasitaires tels que Ivermectine ou Al-Bendazol ne sont utilisés que pour les maladies digestives d'origine parasitaire soit 32,10% alors qu'ils ne sont jamais utilisés en cas du syndrome diarrhéique d'origine bactérienne (0%).

La correction zootechnique et alimentaire: il n'y a qu'une minorité qui fait appel à ce moyen de lutte soit 21,05%.

4.3-2 Suivi sanitaire :

Notre étude clinique s'est basée, pour chaque site, sur les cas diarrhéiques et les mortalités marquées par rapport à l'échantillon et par rapport au total des lapins sevrés. Le détail est représenté sur la fiche de suivi (Clf : Appendice B). Les résultats sont regroupés dans le tableau 4.7 suivis par son interprétation.

Tableau 4.7: Résultats cliniques observés en post- sevrage pour les trois sites (nombre et pourcentage des cas de diarrhée et les mortalités par rapport à l'échantillon étudié et par rapport au nombre total des lapins sevrés)

Sites	Total des lapins sevrés	Echantillon suivi (n)	Cas de diarrhée Nbr (%)	Mortalité / Echantillon Nbr (%)	Mortalité / total lapins sevrés Nbr (%)
01	80	30	14 (17,50)	03 (10)	20 (25)
02	95	35	22 (23,15)	05 (14,28)	25 (26,31)
03	55	32	08 (14,54)	02 (6,25)	08 (14,54)
Total	230	97	44 (19,13)	10 (10,31)	53 (23,04)

Site 1:

Entre j3 et j18 de suivi, et sur un total de 80 lapins, on a noté 14 cas (17,5%) de diarrhées, souillant l'arrière train (figure 4.11), dont trois (10%) faisant parti de notre échantillon, sont morts.

Un pourcentage de 25% est estimé pour le nombre total des lapins sevrés morts, au sein de ce premier élevage, présentant ou non des diarrhées



Figure 4.11 : cas diarrhéique (photo personnelle)

Site 2:

Un pourcentage de 23,15% a été enregistré entre j7 et j22 pour les cas diarrhéiques ainsi cinq lapins soit 14,28% sur un échantillon de 35 sont morts. Le pourcentage du total des lapins morts est de 26,31%. Certains lapins ont présenté des diarrhées avant leur mort et d'autres étaient apparemment sains.

Site 3:

Sur un total de 55 lapins sevrés huit lapins soit 14,54% ont présenté des diarrhées entre j4 et j15 et sont morts dont deux (6,25%) faisant parti de notre échantillon (n=32).

4.3-3 Etude bactériologique :

4.3-3-1 Dénombrement de la flore colibacillaire :

Pour le suivi bactériologique, le procédé de prélèvement et de mise en culture est simple, facile à mettre en oeuvre, vu le nombre limité d'échantillons.

Au cours du dénombrement, les colonies de colibacilles sont facilement reconnaissables (figure 4.12).



Figure 4.12: Dénombrement de la flore colibacillaire (photo personnelle)

Les résultats sont présentés dans les tableaux 4.8, 4.9 et 4.10 respectivement pour les sites 1, 2 et 3. Chaque tableau est suivi par son histogramme et son interprétation.

Tableau 4.8: Enumération (\log_{10} UFC/g) des *E.coli* dans les fèces des lapins sevrés durant quatre semaines dans l'élevage 1 (moyenne \pm écart type).

Semaines	Nombre de prélèvements	Enumération de la flore colibacillaire (UFC/g)
01	15	2,29 ^a \pm 0,24
02	15	2,22 ^a \pm 0,28
03	15	2,23 ^a \pm 0,15
04	15	2,15 ^a \pm 0,16
Total	60	2,20 \pm 0,21

a,b,c.: sur une même colonne les moyennes affectées d'une lettre différente, différent entre elles au seuil $P=0.05$.

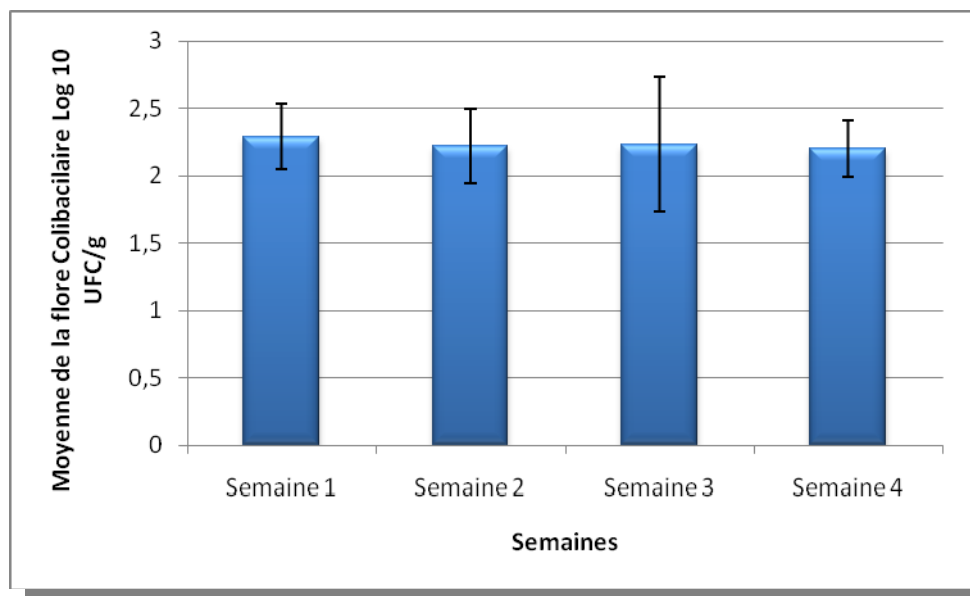


Figure 4.13 : Histogramme des moyennes de la flore colibacillaire dans le 1^{er} élevage

L'énumération moyenne de la flore bacillaire pour le premier site est de 2,20 Log₁₀ UFC/g de fèces avec un écart type de 0,21 (tableau 4.8). Les valeurs pour les quatre semaines post-sevrage variant entre 2,15 et 2,29 Log₁₀ UFC/g avec une différence non significative ($P > 0,05$) (figure 4.13).

Tableau 4.9: Les nombres moyens (log₁₀ UFC/g) des *E.coli* dans les fèces des lapins sevrés durant quatre semaines dans l'élevage 2. (moyenne ± écart type).

Semaines	Nombre de prélèvements	Enumération de la flore colibacillaire (ufc/g)
01	15	2,33 ^a ±0,17
02	15	2,14 ^{ab} ±0,33
03	15	2,32 ^a ±0,13
04	15	2,13 ^b ±0,12
Total	60	2,23±0,22

a,b,c...: sur une même colonne les moyennes affectées d'une lettre différente, différent entre elles au seuil $P=0.05$.

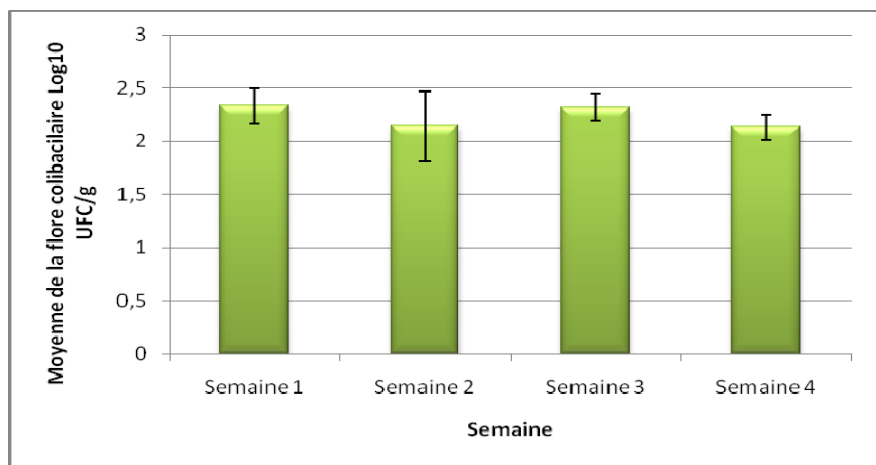


Figure 4.14 : Histogramme des moyennes de la flore colibacillaire dans le 2^{ème} élevage

Le dénombrement révèle une valeur moyenne de $2,23 \pm 0,22$ Log₁₀ UFC/g de fèces pour cet élevage (tableau 4.9). Les énumérations 2,33 ; 2,14 et 2,32 Log₁₀ UFC/g sont respectivement pour la première, la deuxième et la troisième semaine post-sevrage avec une différence non significative ($P > 0,05$). Pendant la quatrième semaine post-sevrage le dénombrement est de $2,13 \pm 0,12$ Log₁₀ UFC/g (figure 4.14); en le comparant avec celui de la première semaine et celui de la troisième semaine, les résultats montrent une différence hautement significative ($P < 0,001$).

Tableau 4.10: Les nombres moyens (log₁₀ UFC/g) des *E.coli* dans les fèces des lapins sevrés durant quatre semaines dans l'élevage 3. (Moyenne ± écart type).

Semaines	Nombre de prélèvements	Enumération de la flore colibacillaire (ufc/g)
01	15	$2,42^a \pm 0,12$
02	15	$2,32^b \pm 0,12$
03	15	$2,12^c \pm 0,12$
04	15	$1,80^d \pm 0,12$
Total	60	$2,16 \pm 0,26$

a,b,c...: sur une même colonne les moyennes affectées d'une lettre différente, différent entre elles au seuil $P=0.05$.

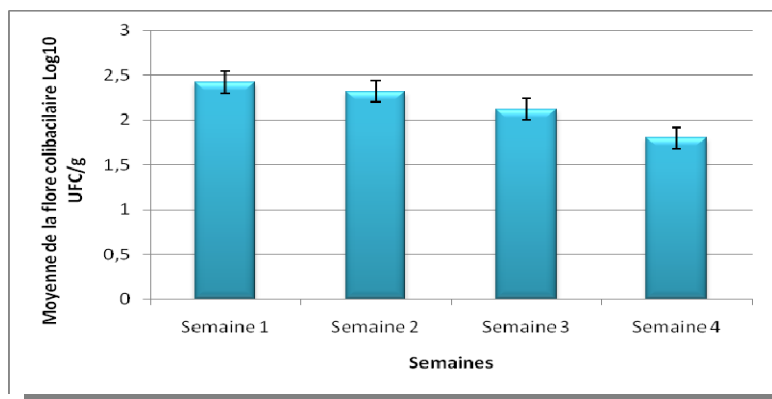


Figure 4.15 : Histogramme des moyennes de la flore colibacillaire dans le 3ème élevage

L'énumération moyenne du troisième élevage est de $2,16 \pm 0,26$ Log₁₀ UFC par gramme de fèces (tableau 4.10). Les dénombrements durant les quatre semaines de suivi varient entre 1,80 et 2,42 Log₁₀ UFC/g avec une différence très hautement significative ($P < 0,001$) exception faite entre la première et la deuxième semaine où les résultats montrent une différence significative ($0,05 > P > 0,01$) (figure 4.15).

4.3-3-2 Coloration de Gram :

La coloration de Gram des souches isolées a confirmé la présence de bacilles Gram négatifs (-), qui prennent une couleur rose, caractéristique morphologique des entérobactéries en général et les *E.coli* en particulier (Figure 4.16).

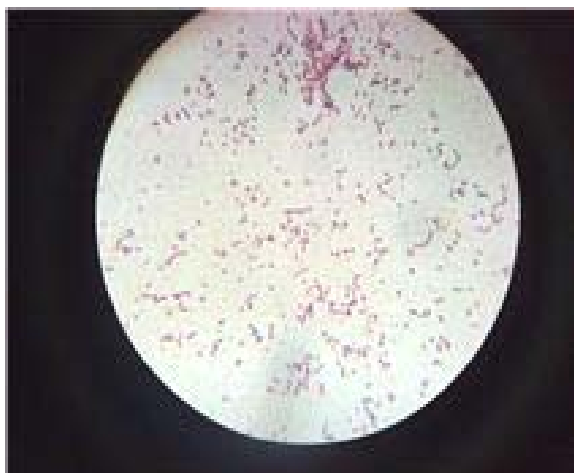


Figure 4.16 : Bacille Gram négatif caractéristique morphologique des *E.coli*
(Photo personnelle)

4. 3-3-3 Identification biochimique :

Un total de 50 souches de l'espèce *Escherichia coli*, après leur purification, ont répondu aux caractères biochimiques caractéristiques de l'espèce (figure 4.17).

Les 50 souches regroupent 18,17 et 15 souches issues respectivement du premier, deuxième et troisième élevage.



Figure 4.17 : Galerie API 20^E représentant les caractères biochimiques d'*E.coli*
(Photo personnelle)

L'étude biochimique a permis l'identification d'autres entérobactéries à savoir:

Proteus vulgaris,

Klebsiella

Providencia alcalifaciens

Providencia rettgeri

Chromobacterium violaceum

Flavimonas

L'étude bactériologique n'a pas été poursuivie pour ces souches puisqu'elles ne font pas partie de notre objectif.

4.3-3-3 Antibiogramme :

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition (en mm) et leurs interprétations pour les 50 souches isolées sont présentés dans l'appendice F

Nous avons regroupé les résultats de la sensibilité des 50 souches d'*E. coli* aux différents antibiotiques étudiés dans le tableau 4.11.

Tableau 4.11 Résultats de l'antibiogramme des souches étudiées (Nombre et pourcentage des souches identifiées en fonction de la sensibilité aux antibiotiques)

Antibiotiques	S	I	R
Triméthoprime-Sulfaméthaxasole	50(100%)		
Fluméquine	50 (100%)		
Ampicilline	45 (90%)		5*(10%)
Colistine	50 (100%)		
Tétracycline	50 (100%)		
Gentamycine	48 (96%)	2* (04%)	
Streptomycine	50 (100%)		
Amoxicilline	46 (92%)	3* (06%)	1*(02%)

S= souches sensibles à l'antibiotique ; I= souches de sensibilité intermédiaire à l'antibiotique ; R= souches résistantes à l'antibiotique ; *= souches issues de l'élevage³.

Sur les huit antibiotiques testés, la totalité des souches (100%) issues des trois élevages ont présenté une sensibilité à cinq antibiotiques, à savoir triméthoprime-sulfaméthaxasole (SXT), fluméquine (FUM), colistine (CS), tétracycline (TET) et la streptomycine (STR).

Un pourcentage de 90% des souches est sensible à l'Ampicilline (AMP) alors que cinq souches (10%) issues du troisième site sont résistantes à cet antibiotique. Concernant la gentamycine (GEN), un total de 48 souches sur 50 sont sensibles contre deux souches (4%) issues du troisième site ayant une sensibilité intermédiaire. Finalement, les souches présentes des sensibilités différentes vis-à-vis de l'amoxicilline (AM). Un total de 46 souches (92%) sont sensibles alors que trois souches (6%) présentent une sensibilité intermédiaire et une seule souche (2%) est résistante. Pour les deux derniers cas, les souches sont issues aussi du troisième site.

4.4 Discussion :

4.4-1 Questionnaire :

Nous avons ciblé par notre questionnaire les praticiens privés, les seuls en contact direct avec la réalité du terrain. De plus, le choix de cerner la wilaya de Blida et non pas une partie de la région nous évite le biais de sélection. L'importance et le type d'élevage peuvent varier d'une région à une autre ainsi que l'incidence des maladies.

La méthode "face à face" est certes la solution la plus souple pour recueillir les réponses [119; 120]; mais la nature du travail des vétérinaires nous a obligé de procéder à une deuxième méthode qui est le téléphone. Nous avons jugé qu'il est mieux que le courrier, il nous permet au moins d'être en contact direct, de mieux s'exprimer et d'avoir le maximum d'informations. Pour les deux méthodes, les vétérinaires étaient très coopératifs mais cela n'empêche pas que les deux méthodes peuvent donner des résultats différents.

L'élevage cunicole n'est pas uniquement un élevage de loisir et d'occupation dans notre région comme le pensent plusieurs personnes. En effet, les vétérinaires (86.67%) confirment que les éleveurs font appel à eux bien qu'il ne s'agisse pas d'élevage industriel ; contrairement au Maroc où les vétérinaires (ou les techniciens) ne sont consultés que dans 15.3% des cas [109]. Il nous semble que nos élevages commencent à dévier et à s'éloigner du but de l'autoconsommation. Ces résultats sont semblables à ceux rapportés au Maroc tout en gardant l'aspect traditionnel [109] et ceux du Sud-Bénin avec un aspect hygiénique assez bon [121].

Le nombre de clapiers visités par chaque vétérinaire est au minimum de 2, cela reflète l'importance des élevages non déclarés et donc une production de viande non contrôlée et non enregistrée. Ce même problème est soulevé par JAOUZI et ses collaborateurs. Leur enquête a permis de déduire une commercialisation des lapins principalement en vif au souk (60%) et à la ferme (17%des cas). L'abattage à la ferme est pratiqué uniquement dans 1.77%des

cas [121]. La Tunisie souffre aussi du problème du non enregistrement des éleveurs [110]. La viande lapine qui apparemment offre des valeurs nutritives importantes [122], a réussi à marquer une production mondiale estimée à 1.8 millions de tonnes par an. François LEBAS a soulevé le problème de la production de la viande lapine en Algérie qui ne varie jamais au fil des années et qui serait "officiellement" de 7000 tonnes chaque année depuis 1990, sans aucune variation (selon les données de l'Organisation des Nations unies pour l'Alimentation et l'Agriculture " FAO" jusqu'à 2006) et il ajoute: "ce qui n'est guère plus sérieux" [123].

Les pathologies rencontrées sur notre terrain cunicole sont variées : Sur les cinq groupes obtenus, la pathologie digestive revient trois fois. Elle peut être la seule pathologie rencontrée (23.07%) ou accompagnée d'une autre pathologie à savoir; parasitaire (50%) ou respiratoire (7.69%). Cela reflète son importance dans nos élevages et rejoint les résultats de plusieurs travaux [124; 21; 19; 2; 121]. La gale du corps et de la tête est une maladie parasitaire qui semble occuper une place plus au moins importante selon notre questionnaire puisqu'elle revient pour deux groupes (seule ou accompagnée de problèmes digestifs). Un résultat qui s'accorde d'une part avec celui de BERGAOUI [111] ,qui signale qu'en Tunisie la gale des oreilles est l'une des pathologies dominantes, alors qu'il s'oppose d'autre part à celui des élevages français où la pathologie est rare [19]. Cela semble être lié aux conditions d'hygiène. Finalement la pathologie respiratoire, même retrouvée avec un pourcentage de 7.69%, ce résultat ne peut être négligé puisqu'elle aussi a été visée par un deuxième groupe de vétérinaires qui l'impliquent avec la pathologie digestive (7.69%). En l'an 2000, MARLIER (cité par Marlier et al, 2003 [2]) a rapporté un pourcentage plus élevé pour les maladies respiratoires dans les élevages artisanaux (25%) et de 33% dans les élevages industriels.

Le syndrome diarrhéique semble être une réalité de notre cuniculture, un pourcentage de 90.47% est un résultat semblable à celui rapporté par LICOIS qui parle d'une incidence importante de la diarrhée (95% des cas) comme symptôme digestif dominant dans les élevages cunicoles [20; 1].

La pathologie digestive sans diarrhée est une possibilité soulevée par notre questionnaire (09.52%). Les vétérinaires suspectent dans ce cas des entérotoxémies, une suspicion qui s'accorde avec la littérature [125; 19].

Le syndrome diarrhéique d'origine bactérien est une dominante majeure en cuniculture suivi par l'étiologie parasitaire [126; 11; 2; 20; 1]. L'agent bactérien semble être important dans nos élevages puisqu'il est impliqué dans quatre sur sept groupes étudiés.

L'*Escherichia coli* fait partie du monde bactérien, nous avons ajouté cette possibilité vu sa relation directe avec notre sujet, D'autre part, nous voulons soulever son importance lors du diagnostic des praticiens ; autrement dit est-ce que les vétérinaires peuvent suspecter cette bactérie lors d'un syndrome diarrhéique ? Ou ils laissent la cause bactérienne sans précision !

Il n'y a que 5.26% des praticiens qui suspectent l'espèce *E.coli* alors que plus de 26% l'implique avec l'agent bactérien, un résultat en accord avec ceux de la bibliographie [37; 126; 56; 39].

Le facteur alimentaire n'est pas absent dans nos élevages (21.05% des cas), Notre synthèse bibliographique a déjà impliqué ce facteur dans les étiologies du syndrome diarrhéique [127; 128; 19; 130; 29; 33].

Les étiologies des affections digestives restent parfois difficile à établir car les signes cliniques ne sont pas pathognomoniques et l'un d'entre eux est la diarrhée qui revient dans plus 90% des cas [19; 1]. Notre questionnaire a permis de relever un pourcentage de 47% pour les vétérinaires qui ne se basent que sur l'anamnèse. Un résultat qui semble refléter la crédibilité du diagnostic et par conséquence le traitement prescrit. D'autre part cela nous pousse à revoir les programmes des travaux pratiques en graduation dans le but d'apprendre au premier lieu puis enraciner l'utilité et la nécessité de l'autopsie pour les petits animaux entre autre le lapin qui semble être une espèce plus au moins négligée. Une programmation des journées d'études des pathologies en cuniculture ouvertes mêmes pour les vétérinaires praticiens peut corriger beaucoup d'erreurs et améliorer nos connaissances sur cette espèce qui a pris une place importante dans plusieurs pays du monde.

Le laboratoire en tant que moyen de confirmation n'est pas un recours pour les vétérinaires (0%) en cuniculture et cela est dû sans doute au coût ainsi il ne faut pas oublier qu'il s'agit d'élevage traditionnel dont l'effectif ne dépasse pas les 100 lapines reproductrices.

Un traitement à base d'antibiotiques est indiqué en cuniculture, cependant le lapin est une espèce sensible vis-à-vis de certaines molécules. L'effet toxique de l'ampicilline et la pénicilline a été démontré par plusieurs travaux cités par LICOIS [131]. Ce chercheur a ajouté que d'une manière constante, l'administration d'ampicilline conduit à une forte élévation de la flore colibacillaire saprophyte voire pathogène quand elle est présente. Son mini revue a signalé que l'ampicilline fait partie des antibiotiques à proscrire chez le lapin. Ces données s'opposent à nos résultats, d'après notre questionnaire les vétérinaires utilisent volontiers l'ampicilline, le résultat sans doute reste à confirmer. Les autres antibiotiques utilisés par nos vétérinaires, à savoir les sulfamides, triméthoprimine et fluméquine font partie de la liste à prescrire.

La colistine qui est un antibiotique de choix [67; 131] n'est apparemment pas utilisée par nos vétérinaires dans le domaine de la cuniculture.

Les antiparasitaires (tel que l'ivermectine) sont utilisés uniquement dans le cas de pathologie d'origine parasitaire, or ils constituent un traitement à prescrire même en cas d'étiologie bactérienne. Il a été montré qu'un déséquilibre de la flore colibacillaire peut être secondaire à une étiologie digestive d'origine parasitaire [2; 1]. En 1980, LICOIS et GUILLOT ont constaté une forte élévation du nombre de *Escherichia coli* dans les fèces de lapins expérimentalement infestés par des coccidies [87].

La correction zootechnique et hygiénique n'a été un point d'importance que pour certains praticiens (21,05%) alors que plusieurs résultats confirment qu'il est possible d'obtenir une prévention des troubles digestifs par l'application d'une bonne stratégie alimentaire [128; 129; 123; 12; 39; 30 ; 67].

D'autre part, au cours de notre discussion avec les éleveurs nous avons appris que leur problème majeur est l'alimentation. Sur le terrain, il existe deux

principales sources (fabricants) d'aliments destinés aux lapins: le premier est un aliment standard pour toutes les sections d'élevage alors que le deuxième se présente différent selon chaque section. Les éleveurs ont remarqué qu'ils ont des problèmes de diarrhées et surtout de mortalité exagérée avec le premier aliment qu'avec le deuxième. Selon la littérature, les besoins nutritionnels des lapereaux et de leur mère étant différents. Une analyse détaillée des conséquences des apports alimentaires excessifs ou insuffisants pour les différents nutriments a été présentée pour les jeunes ainsi que pour leur mère. Un bon état corporel de la lapine reproductrice nécessite une alimentation concentrée (relativement pauvre en fibres) tandis que celles des lapereaux allaités un apport conséquent de fibres favorise la mise en place d'une flore cellulolitique indispensable à la santé des lapereaux sous la mère mais surtout après le sevrage. Un excès de protéines favoriserait la prolifération de certains pathogènes tels que *E.coli* ou *Clostridium* qui utilisent les acides aminés comme substrat pour la croissance bactérienne et accroîtrait ainsi le risque des diarrhées [132; 128; 133; 30]. Pour le même sujet, LEBAS ajoute que l'un des grands risques associés à la composition des aliments est lié à la non prise en compte de la variabilité naturelle (biologique ou technologique) des matières premières, conduisant à des aliments finis dont la composition s'écarte trop des valeurs théoriques calculées [134].

4.4-2 Suivi Sanitaire :

Le suivi des trois élevages a permis de relever un pourcentage des cas diarrhéiques variant entre 14 et 17% et une moyenne de 19,13% pour un total de 230 lapins. Une diarrhée caractérisée par une couleur vert brunâtre souillant l'arrière train des sujets atteints.

Ces épisodes diarrhéiques sont suivis par des mortalités s'étalant entre le troisième et les vingt deuxième jours de suivi, autrement dit durant les trois premières semaines suivant le sevrage.

En premier, suite à ses résultats nous confirmons que nos élevages cynicoles sont une cible de pathologies digestives au sevrage.

De plus, les diarrhées et les mortalités qui ne touchent qu'une minorité de la population cible nous permettent de suspecter qu'on est face à une entérite colibacillaire du sevrage mais loin d'être une colibacillose due à des *E.coli* pathogènes. En revanche, il ne faut pas sous estimer le rôle d'autres facteurs dans le déclenchement des entérites du lapin en post-sevrage, en particulier les coccidioses, les facteurs nutritionnels modifiant le pH intestinal, ou d'autres agents infectieux tels que les clostridies ou les rotavirus [4; 2]. Ces différents facteurs ne faisant pas partie de notre protocole de recherche, méritent d'être l'objectif d'études ultérieures.

Dans le cas d'une colibacillose proprement dite, la mortalité dépasse les 50% après des épisodes diarrhéiques sévères. A titre d'exemple, En 1986, CAMGUILHEM et ses collaborateurs [89] n'ont enregistré aucune mortalité dans le groupe témoins (non inoculé) vs 50% et 62,5% sont des pourcentages de mortalité qui ont été enregistrés respectivement pour les lots inoculés par 10^4 et 10^7 *E.coli* par animal. La mortalité faisait systématiquement suite à une diarrhée plus au moins abondante. Cette dernière, se présentait sous forme d'excréments liquides brunâtres qui souillent l'arrière train de l'animal. Dans un cas seulement, ils ont observé une diarrhée hémorragique. Les pourcentages de la diarrhée étaient de 20,83%, 87,5% et 95,83% respectivement pour le lot témoin, lot inoculé à 10^4 et 10^7 *E.coli* par animal.

Selon LICOIS [60; 131], en élevage rationnel, on peut estimer que la diarrhée, symptôme le plus constant de la pathologie intestinale, se manifeste dans plus de 90% des cas d'entérites, essentiellement pendant les 2 ou 3 semaines qui suivent le sevrage. Ce qui rejoint nos résultats. Il ajoute qu'en France la mortalité post sevrage moyenne se situe autour de 13% mais dans certains élevages elle peut atteindre 25 ou 30%, voire même dépasser 40% [131]. Cela est dû à la grande sensibilité des lapins après le sevrage à l'âge de 5 à 6 semaines et l'augmentation progressive de leur résistance en fin de période de l'engraissement [4]

D'autres études confirment que le syndrome des entérites colibacillaires de sevrage est fréquent et se remarque dans tous les élevages [19]. Les auteurs expliquent que l'influence sur la santé du lapereau dépend de sa qualité, de son régime alimentaire, ou de ses qualités d'adaptation. De plus, ils ajoutent qu'on peut estimer une courbe normale de mortalité sur la base de 0.5% en première semaine, 1% en deuxième semaine, 1% en troisième semaine. Alors que pour un élevage instable, la mortalité peut atteindre de 5% dans la semaine à 1% par jour et la diarrhée est secondaire au mauvais fonctionnement du caecum (rupture des équilibres nécessaires) [19,135].

En comparant ces données avec nos résultats (entre 14 et 26% de mortalité), nous pouvons dire que nos élevages étudiés font parti des élevages instables malgré les "solutions" apportées par les éleveurs.

4.4-3 Etude bactériologique :

L'énumération colibacillaire au cours de notre étude, montre des taux non élevés pour les trois sites d'élevage.

Pour le premier site, utilisant le désinfectant dans l'eau de boisson, les dénombrements durant les quatre semaines de suivi ont présenté une différence non significative tout en notant une diminution des valeurs entre la première et la dernière semaine (2,29 vs 2,15 Log₁₀ UFC/g) indiquant ainsi une stabilité de la flore colibacillaire.

Concernant l'utilisation du vinaigre, les dénombrements ont prouvé aussi la stabilité de la biocénose colibacillaire mais cette fois-ci avec une différence très significative ($P < 0.001$), d'une part entre la quatrième et la première semaine et d'autre part entre la quatrième et le troisième semaine.

Les valeurs colibacillaires au sein du dernier site (utilisant l'anti-stress) sont en décroissance linière avec une différence très significative ($P < 0.001$), témoignant la stabilité de la flore.

Nos résultats rejoignent ceux rapportés par plusieurs études tels ceux de PADIHA et coll [136]. Ils ont relevé un niveau de flore colibacillaire qui a fortement diminué au sevrage pour se stabiliser entre 29 et 49 jours d'âge (trois premières semaines post-sevrage),

Nos valeurs qui varient entre $2,16 \pm 0,26$ et $2,33 \pm 0,22$ Log₁₀ UFC/g s'accorde avec la littérature qui confirme la pauvreté de la flore colibacillaire après le sevrage chez le lapins dont pour certains peut être nulle [2; 17; 135]. D'autre part, nos résultats se diffèrent de ceux enregistrés par plusieurs recherches donnant en général un taux de 3 à 4 Log₁₀ UFC/g pour les *E.coli* en post sevrage [136; 39].

Lors d'une infection par des souches d'*Escherichia coli* pathogènes les études soulèvent des taux entre 5 et 10 log₁₀ UFC/g (89; 47; 39; 132). Le caractère pathogène d'une souche pathogène se manifeste par son extrême pouvoir de développement dans l'appareil digestif du lapereau sain, en atteignant en quelques jours des taux de 10⁹ à 5.10¹⁰ UFC /g du contenu caecal [4]

Ces résultats qui sont nettement différents à nos valeurs indiquent que nos élevages suivis n'ont été à aucun moment une cible des souches pathogènes.

Par ailleurs, la bibliographie témoigne que dans la majorité des cas les pathologies diarrhéiques chez le lapin s'accompagnent d'une élévation de la flore colibacillaire, qui peut être primaire ou secondaire à un autre facteur. Cela nous pousse à penser que nos lapins morts au cours de notre étude, pouvaient présenter des taux plus élevés de la flore colibacillaire. Une hypothèse qui ne pouvait être confirmée que par un sacrifice des sujets malades et un dénombrement de la flore caecale, une solution qui n'était pas dans nos mesures possibles.

L'examen bactériologique après autopsie (Clf : Appendice E) des sujets morts a fait face à deux problèmes, à savoir : En premier, il n'est jamais possible d'avoir la totalité des sujets. Le deuxième problème et le plus important, est que les résultats bactériologiques seront surestimés par la prolifération bactérienne post-mortem puisqu'il n'est jamais possible de préciser l'heure de la mort. Ce qui nous a mené à perdre l'importance des résultats de cet examen.

D'autre part, les lésions n'étant pas imputables à l'expression seuls les colibacilles et d'autres examens complémentaires sont nécessaires pour affiner et expliquer l'examen nécropsique (recherche des parasites, des bactéries anaérobies...etc) [135]

Il est important de signaler que même si les lapins malades ont présenté des taux élevés de colibacilles cela n'est pas fortement lié à des souches pathogènes. Au cours d'une diarrhée secondaire au mauvais fonctionnement du caecum, les colibacilles peuvent se multiplier pour atteindre 100 millions au gramme de contenu caecal au lieu de 10000. BOUCHER et NOUAILLE affirment que cette diarrhée et cette entérite ne doivent pas être confondues avec les colibacilles qui sont dues à des sérotypes pathogènes identifiables par examen microbiologique [19].

Dans le même contexte, en 2009, BOUCHER et cette fois ci avec la coopération de MOREL expliquent que les entérites colibacillaire dites de sevrage sont dues à une prolifération anormale de *E.coli*, naturellement présent en faible quantité dans le tube digestif des lapereaux en croissance touchant à un moment ou un autre tous les élevages, lorsque les lapereaux en croissance subissent un stress. Alors que les colibacillooses vraies dues à des familles de colibacilles reconnues pathogènes (tels que *E.coli* O103, O15 et O109...etc) ne touchent que les élevages dont les reproducteurs sont porteurs [135].

Nos résultats diffèrent de ceux rapportés par SLIFOU [121], qui en 2007, a enregistré en élevage au sud-Bénin, une moyenne de létalité atteignant 68% et le principal microorganisme identifié était *Escherichia coli*. Toutefois, étant donné que son travail ne s'est pas intéressé à la coccidiose, il suspecte que certains cas de diarrhée peuvent être dus à des coccidies tandis que d'autres travaux ont confirmé la possibilité de provoquer des taux de mortalités élevés par des souches d'*Escherichia coli* pathogènes chez des sujets indemnes de coccidiose.

Un diagnostic et un examen bactériologique se révèlent indispensables face à des colibacillooses car toutes les souches présentent une résistance à l'un ou l'autre des antibiotiques testés [135].

Concernant notre travail, et avant de discuter les résultats obtenus, il est utile d'expliquer que le choix des antibiotiques testés a été fait sur la base de deux éléments : le premier concerne les antibiotiques les plus utilisés sur notre terrain, selon notre questionnaire, il s'agit de l'Ampicilline, Fluméquine et la Streptomycine. Le deuxième élément est la bibliographie (antibiotiques les plus testés). Au début nous avons ciblé, au total, une quinzaine d'antibiotiques à tester mais les moyens disponibles nous ont permis d'avoir uniquement huit.

Nos résultats ont montré des sensibilités (100%) pour la majorité des antibiotiques testés, cinq sur huit antibiotiques, à savoir Triméthoprim-Sulfaméthaxazole (SXT), Fluméquine (FUM), Colistine (CS), Tétracycline (TET) et la Streptomycine (STR). De plus, une sensibilité majoritaire à la gentamycine (96%), à l'ampicilline (90%) et à l'amoxicilline (92%).

Cinq souches issues du troisième élevage utilisant l'anti-stress, ont présenté des sensibilités différentes :

Trois souches sont résistantes uniquement à l'Ampicilline alors qu'une autre souche a présenté une résistance à l'Ampicilline et la Gentamycine et une résistance intermédiaire à l'Amoxicilline. Une dernière souche résistante à l'Ampicilline et l'Amoxicilline.

Nos résultats nous offrent une gamme d'antibiotiques ayant une bonne action sur les souches colibacillaires et qui peuvent être utilisés dans la filière cunicole exception faite pour les deux antibiotiques proscrits (AMP et AM) qui ne sont même pas contrôlés par certains laboratoires tel suivi par GAY et son groupe de recherche [138].

Les résistances mises en évidence montrent aussi l'utilité d'un examen bactériologique qu'on joint à la prescription afin de pouvoir adapter un traitement en cas de résistance du *E.coli* à l'un des antibiotiques choisis [135].

Bien que nos souches étudiées ne fassent pas partie des souches pathogènes, nous pensons qu'il est toujours nécessaire de savoir la sensibilité des souches isolées de nos élevages vis-à-vis des antibiotiques utilisés. PERUGINI signale que la présence d'*Escherichia coli* non seulement entéropathogène, mais aussi résistantes, ou multirésistantes, aux antibiotiques peut être considérée comme

dangereuse, surtout si on considère la diffusion de résistance parmi la population de bactéries de l' "écosystème" intestinal [98]. De plus, *Escherichia coli* est le germe le plus représenté: un groupe de recherche a soulevé un pourcentage de 49% des 18058 antibiogrammes collectés. Il s'agit du pathogène le plus fréquemment isolé de prélèvements infectieux dans presque toutes les filières animales. *E. coli* représente près de 30% des antibiogrammes chez les lapins et jusqu'à 74 % chez les volailles [138].

Malgré le risque de l'utilisation abusive des antibiotiques ou des produits chimiques, surtout les non indiqués, ne fait pas partie de l'objectif de notre travail; nous avons jugé qu'il est utile de faire le point autant que vétérinaires et consommateurs défendant leurs intérêts.

Les antibiotiques exercent leur action sur la flore endogène et d'opportunité. A faibles doses dans l'alimentation, ils permettent d'éviter les déséquilibres, rencontrés lors de certaines périodes critiques de l'élevage ou liés aux conditions de vie « insalubres », en agissant sur les flores perturbatrices.

Mais l'utilisation erronée peut conduire à la sélection de germes résistants aux antibiotiques, ce qui est un phénomène naturel et inévitable [139].

Nous pensons que même si nos élevages ne font pas partie des élevages intensifs, l'utilisation exagérée et erronée des antibiotiques dans un cadre curative et/ou prophylactique pour améliorer les performances zootechniques peut mener nos élevages aux problèmes de résistances des souches et par conséquent l'échec thérapeutique.

CONCLUSION

Notre enquête menée par le questionnaire nous a permis de montrer l'importance des pathologies digestives dans nos élevages cunicoles. De plus, le syndrome diarrhéique serait d'origine bactérienne et représente une pathologie dominante ce qui est en accord avec la littérature. La composition alimentaire selon chaque section d'élevage doit être prise en considération car elle semble être incriminée dans les étiologies digestives d'élevage.

Les taux de mortalité enregistrés donnent une caractéristique d'instabilité aux élevages étudiés témoignant ainsi des pertes économiques au sein de notre cheptel.

A la lumière des résultats bactériologiques obtenus, nous pouvons conclure que les lapins font face à des entérites colibacillaires du sevrage et non pas à des souches de *E. coli* pathogènes. Même si nos résultats correspondent avec ceux des autres travaux, il est important de signaler qu'ils peuvent être influencés par l'utilisation de certains produits dans l'eau de boisson ; nécessitant ainsi des études ultérieures.

L'isolement dans les élevages suivi de souches résistantes à certains antibiotiques, témoigne de l'utilisation non respectée et abusive des antibiotiques et/ou des anti-stress, reflétant ainsi l'importance et l'utilité de l'antibiogramme avant la prescription du traitement.

Notre étude doit être poursuivie par des recherches plus approfondies, visant d'une part un nombre plus important d'élevages pour une aire d'étude plus large ; d'autre part, viser seulement des cas diarrhéiques sacrifiés dans le but de rechercher le ou les agents en cause. Les facteurs de risques telles que l'hygiène et l'alimentation restent encore à étudier pour cette pathologie et pour ce type d'élevage.

RECOMMANDATIONS

Après avoir mené la présente étude qui a visé trois élevages de lapins dans le but d'étudier le syndrome diarrhéique chez cette espèce et sa relation avec les souches d'*Escherichia coli* et de tester leurs sensibilités aux antibiotiques, nous avons pensé à des recommandations qui peuvent améliorer notre secteur cynicole et par conséquent l'impact économique. Nous proposons :

- Une formation pour les éleveurs dans le but :

D'une part, les inciter pour déclarer leurs élevages qui peuvent être suivis et contrôlés et cela ne peut se faire que par des offres intéressantes proposées par les autorités.

D'autre part, les sensibiliser sur le risque de l'utilisation des produits chimiques ou le non respect de l'usage des anti-stress sur la santé du consommateur et l'animal.

- Sensibiliser les praticiens sur l'utilisation rationnelle des antibiotiques chez le lapin, espèce particulièrement sensible.

- Mener des études épidémiologiques permettant de rechercher l'implication des souches pathogènes d'*Escherichia coli* dans nos élevages sur des sujets diarrhéiques sacrifiés issus d'élevages de typologies différentes.

- Face au syndrome diarrhéique et en suspectant des souches colibacillaire nous recommandons de :

1. Utiliser en cas de besoin une antibiothérapie adéquate
2. Privilégier la prophylaxie sanitaire et hygiénique
3. Réguler le fonctionnement du cæcum en rajoutant des régulateurs digestifs, des réhydratants ou des acidifiants.

APPENDICE A

République Algérienne Démocratique et Populaire
Université SAAD DAHLEB de Blida
Faculté des sciences Agro Vétérinaires
Institut des sciences vétérinaire

Questionnaire Pour un Mémoire de Magistère

Dans le cadre d'une enquête sur le terrain et dans un but d'étudier les pathologies rencontrées en élevage cunicole ; nous vous demandons de bien vouloir répondre à notre questionnaire.

Dr Vétérinaire :

Expérience :

Région :

1. Est-ce que vous rencontrez des pathologies en élevage cunicole ?

Oui Quel est le nombre d'élevages rencontrés?

Non

2. Quel est le type de pathologies rencontrées?

Digestif Respiratoire Autre Précisez.....

3. En cas de maladies digestives, s'agit-il du syndrome diarrhéique?

Oui Non

4. Dans le cas du syndrome diarrhéique, Quel était l'agent suspecté ?

Bactérien Parasitaire
Alimentaire lié au sevrage E.coli

5. Comment confirmez- vous votre diagnostique ?

Laboratoire Autopsie
Autre Précisez

6. Quels sont les traitements habituellement utilisés?

Réponse:.....

Merci d'être coopératif (ive)

APPENDICE B

FICHE DE SUIVI D'ELEVAGE

Elevage :

Région :

Nbr de lapines reproductrices			Total lapins sevrés à j1			Echantillon à j1			Echantillon à j30				
96	85	70	80	95	55	30	35	32	27	30	30		
Diarrhée							Mortalité						
j1	j2	j3	j4	j5	j6	j7	j1	j2	j3	j4	j5	j6	j7
		x E		x	x	E			S	x	ES	S	xx
						xEx		S					S
			x E	x	xx						x	E	x
j8	j9	j10	j11	j12	j13	j14	j8	j9	j10	j11	j12	j13	j14
x	x E	x	x	xx			S		EEx	xx		xxx	S
x	xx	xx	E x	x	E	x	xx	SE x	x	x	x E	x	xx
	E	xx					x	x		x	x	E	
j15	j16	j17	j18	j19	j20	j21	j15	j16	j17	j18	j19	j20	j21
x					x			x		S			
xx	x	x	x E		x E	x	E x	x	xxx		x	x	EE x
J 22	J 23	J 24	J 25	J 26	J 27	J 28	J 22	J 23	J 24	J 25	J 26	J 27	J 28
							x						
							xx						
Total Diarrhée							Total Mortalité						
Echantillon			Groupe			Echantillon			Groupe				
03	05	02	14	22	08	03	05	02	20	25	08		

■ : Elevage 1 ■ : Elevage 2 ■ : Elevage 3

E : sujet fait partie de l'échantillon étudié

S : sujet apparemment sain mort

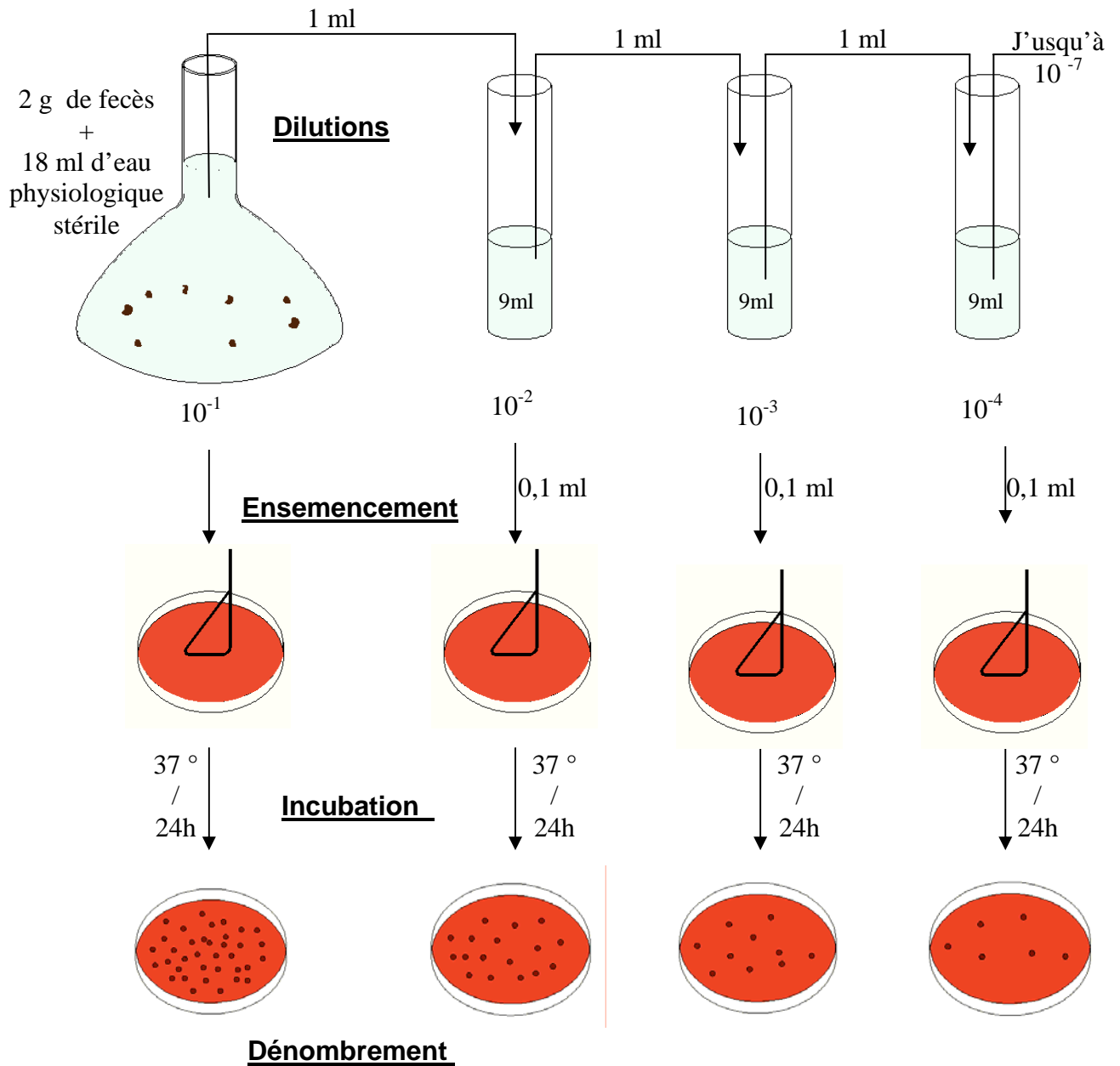
Observation :

.....

.....

APPENDICE C

LOGIGRAMME DE LA METHODE DE DENOMBREMENT DE LA FLORE COLIBACILLAIRE



APPENDICE D

COLORATION DE GRAM

PRINCIPE :

La coloration de Gram consiste à différencier les bactéries ayant une couche membranaire épaisse (présence d'une couche des péptidoglycanes) des bactéries ayant une couche membranaire mince.

La couche des péptidoglycanes étant insoluble à l'alcool, permet aux bactéries de garder la première coloration (le violet de gentiane) et apparaissent donc violettes, elles sont dites Gram +.

Les bactéries qui ne possèdent pas cette couche de péptidoglycanes, sont solubles à l'alcool, après leur décoloration, gardent donc la deuxième coloration et apparaissent rose, elles sont dites Gram- .

TECHNIQUE :

Au microscope au grossissement de 1 000 (10 x 100) en immersion :

Étaler sur lame une à deux gouttes d'une culture en bouillon ;

Sécher et fixer à l'alcool à 90° flambé ;

↳ Recouvrir la lame avec une solution filtrée de violet gentiane phéniquée pendant 15 secondes ;

↳ Rejeter se colorant ;

↳ Recouvrir à 3 reprises avec la solution iodo-iodurée de Lugol ;

↳ Ensuite la lame étant inclinée à 45°, verser la solution d'alcool-acétone en quantité juste suffisante pour faire disparaître la coloration violette ;

↳ Arrêter la différenciation par l'alcool-acétone par lavage rapide à l'eau du robinet ;

↳ Faire agir la solution de fuchsine de Ziehl diluée pendant 15 secondes (coloration de contraste) ;

↳ Enfin rincer à l'eau du robinet et sécher entre 2 feuilles de papier filtre.

Les entérobactéries se présentent alors comme des bacilles colorés en rose, parfois plus intensément aux 2 pôles (coloration dite bipolaire).

APPENDICE E

Tables de lecture (antibiogramme)

Table de lecture 1* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour **Entérobactéries** chez toutes les espèces animales

Condition du test :

Milieu : Gélose Mueller-Hinton

Inoculum : Colonies en suspension,
0,5 Mc Farland

Contrôle de qualité : *Escherichia coli* ATCC25922

Incubation : 35°C, atmosphère ordinaire ; 18h.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
<u>β-lactamines</u>				
Ampicilline	10 µg	≤13	14-16	≥17
Amoxicilline + acide clavulanique**	20/10 µg	≤13	14-17	≥18
Ceftiofure**	30 µg	≤17	18-20	≥21
Cephalothine	30 µg	≤14	15-17	≥18
<u>Aminosides</u>				
Gentamycine	10 µg	≤12	13-14	≥15
Néomycine	30 µg	≤13	14-17	≥18
<u>Sulfamides</u>				
Triméthoprime/sulfaméthaxazole	1.25/23.75 µg	≤10	11-15	≥16
<u>Tétracyclines</u>				
Tétracycline	30 µg	≤14	15-18	≥19
<u>Quinolones</u>				
Acide nalidixique	30 µg	≤13	14-18	≥19
Norfloxacine	10 µg	≤12	13-16	≥17
Enrofloxacin toutes espèces animales	5 µg	≤16	17-22	≥23
Aviaire (<i>E.coli</i>)	5 µg	≤16	17-22	≥23
Bovine	5 µg	≤16	17-20	≥21
<u>Polypeptides</u>				
Colistine	10 µg	≤10	11-12	≥13
<u>Furanes</u>				
Nitrofurantoiné***	300 µg	≤14	15-16	≥17
<u>Phénicolés</u>				
Chloramphénicol***	30 µg	≤12	13-17	≥18

* Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standards- Second Edition CLSI: Document M31-S1-Vol. 24 N°.17; May 2004 et tableau extrait du Document M100-S16.Vol.26,n°3.2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing ;Sixteenth informational supplement.

** Antibiotique testé seulement pour la recherche de la β-lactamase

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

Table de lecture 2 : Valeurs critiques pour les molécules antibiotiques ne figurant pas sur les tables du CLSI (d'après les recommandations du Comité Français de l'antibiogramme de Janvier 2007)

Antibiotiques testés	Charges des disques	Valeurs critiques des diamètres d'inhibition (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
Acide oxolinique	10 µg	<14	-	≥21
Amoxicilline	25 µg	<14	-	≥21
Acide nalidixique	30 µg	-	-	≥21
Cefalexine	30 µg	<12	-	≥18
Flumequine	30 µg	<21	-	≥25
Gentamycine	500 µg	<11	-	≥17
Spiramycine	100 µg	<19	-	≥24
Streptomycine	10 µg	<13	-	≥15

Table de lecture 3* : valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour la souche de référence ATCC 25922 utilisée pour le contrôle de qualité.

Antibiotiques testés	Charge de disque	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Ampicilline	10 µg	16-22
Amoxicilline + acide clavulanique	20/10 µg	19-25
Acide nalidixique	30 µg	22-28
Ceftazidime	30 µg	----
Cephalotine	30 µg	15-21
Cefotxime	30 µg	29-35
Cefoxitine	30 µg	----
Ceftiofur	30 µg	26-31
Cephalotine	30 µg	15-21
colistine	10 µg	11-12
Clindamycine	2 µg	----
Chloramphenicol	30 µg	21-27
Erthromycine	15 µg	----
Enrofloxacin	5 µg	32-40
Furanes	300 µg	20-25
Gentamycine**	10 µg	19-26
Neomycine	30 µg	17-25
Norfloxacin	5 µg	28-35
Oxacilline	1 µg	----
Penicilline	10 UI	-----
Spectinomycine	100 µg	21-25
Trimethoprim /sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	23-29
Tetracycline	30 µg	18-25
Tilmicosine	15 µg	----
vancomycine	30 µg	-----

* Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Informational Supplement CLSI: Document M31-S1-Vol. 24 N°.17; May 2004 et tableau extrait du Document M100-S16.Vol.26,n°3.2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing ;Sixteenth informational supplement.

* disque de gentamycine 120 µg, il faut utiliser la souche de référence *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 [gentamycine (16-22mm)]

APPENDICE F

Résultats Et Interprétation Des Diamètres Des Zones De d'inhibitions

Tableau 1 : Résultats des diamètres des zones d'inhibition pour les souches isolées du premier élevage (en mm)

Antibiotique	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15	E16	E17	E18
SXT	22	22	22	22	23	22	22	22	23	22	22	24	22	22	24	23	22	24
FUM	28	28	28	27	27	29	27	29	28	31	31	29	29	31	31	29	29	29
AMP	20	20	19	19	20	21	21	21	21	20	20	20	21	21	20	21	21	20
CS	18	18	19	19	18	21	21	21	21	21	21	22	22	22	19	21	21	18
TET	24	24	23	25	23	25	24	24	23	25	25	25	23	24	23	22	25	25
GEN	19	19	19	21	21	21	19	20	21	21	20	20	20	21	21	22	22	22
STR	19	20	20	20	20	19	21	21	20	20	21	20	21	21	22	22	21	20
AM	24	24	24	24	25	24	24	24	25	25	25	25	24	25	24	24	24	24

Remarque : Les diamètres des zones d'inhibition révèlent une **sensibilité totale (S)** des souches pour les huit antibiotiques testés

Tableau 2 : Résultats des diamètres des zones d'inhibition pour les souches isolées du deuxième élevage (en mm)

Antibiotique	E19	E20	E21	E22	E23	E24	E25	E26	E27	E28	E29	E30	E31	E32	E33	E34	E35
SXT	21	23	22	22	21	23	22	22	24	24	22	23	22	23	23	24	24
FUM	30	30	31	32	32	32	32	32	32	32	32	31	31	32	32	32	32
AMP	24	24	24	25	25	25	21	21	22	22	21	21	22	20	20	21	21
CS	22	22	22	22	21	21	22	22	21	22	22	23	23	22	24	24	23
TET	24	23	24	25	23	22	22	23	23	23	24	24	25	25	25	26	26
GEN	22	22	21	21	19	21	22	22	22	22	22	21	21	19	19	21	21
STR	20	21	21	22	21	20	19	20	20	20	20	21	21	21	20	20	22
AM	25	24	24	24	24	25	25	24	25	24	24	24	24	24	24	23	24

Remarque : Les diamètres des zones d'inhibition révèlent une **sensibilité totale (S)** des souches pour les huit antibiotiques testés

Tableau 3 : Résultats des diamètres des zones d'inhibition pour les souches isolées du troisième élevage (en mm)

Antibiotique	E36	E37	E38	E39	E40	E41	E42	E43	E44	E45	E46	E47	E48	E49	E50
TXT	22	22	22	24	24	24	24	23	22	23	23	22	24	22	22
FUM	29	29	31	31	32	32	31	32	31	32	32	32	31	33	33
AMP	22	11	22	22	11	21	23	23	10	22	21	23	11	23	10
CS	22	24	22	23	22	24	24	23	24	24	23	22	21	21	23
TET	24	23	25	25	23	25	24	24	25	23	24	25	25	25	25
GEN	21	22	22	21	13	21	21	22	21	21	21	19	13	21	21
STR	22	19	19	22	22	20	20	24	24	21	21	23	23	22	21
AM	24	16	24	23	16	24	23	23	12	23	22	23	22	24	16

Remarque : L'interprétation des diamètres des zones d'inhibition est représentée sur le tableau 4

Tableau 4 : Interprétation des diamètres des zones d'inhibition pour les souches isolées du troisième élevage

Antibiotique	E36	E37	E38	E39	E40	E41	E42	E43	E44	E45	E46	E47	E48	E49	E50
TXT	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
FUM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
AMP	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	R	S	R
CS	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
TET	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
GEN	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S
STR	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
AM	S	I	S	S	I	S	S	S	R	S	S	S	S	S	I

R : souche résistante

I : souche ayant une résistance intermédiaire

S : souche sensible

APPENDICE G

AUTOPSIE APRÈS MORTALITÉ



Photo personnelle : Lapin apparemment sain mort, ne présentant pas de signes pathologiques



Photo personnelle : Lapin apparemment sain mort, présentant un gros intestin encombré



Photo personnelle : accumulation de gaz dans le gros intestin, intestin grêle vide et enflammé



Photo personnelle : Intestin grêle presque vide avec un contenu liquide, hémorragie caecale

APPENDICE H

MATERIEL NON BIOLOGIQUE UTILISE

- Tubes et sacs de prélèvement stériles, gants en latex, glacière isotherme
- Milieux de culture : gélose Mac Conkey, gélose Hecktoène, gélose nutritive, gélose Mueller-Hinton.
- Ecouvillons stériles.
- Violet de gentiane, lugol, alcool, fushine, lames, huile à émersion, eau tamponnée stérile (TSE).
- Galeries biochimiques Api 20E (BioMérieux, Réf. 20 160) pour l'identification des entérobactéries.
- Réactifs nécessaire pour les galeries api : Réactif de la TDA, JAMES (Kovacs), VP1 + VP2, NIT1+NIT2.
- Huile de paraffine (Vaseline).

APPENDICE I

LISTE DES ABBREVIATION ET DES SYMBOLES

A/ E	: Attachement / Effacement (lésion)
AEEC	: Attaching –Effacing <i>E. coli</i>
AF/R1	: Adhesive Factor/ Rabbit1
AF/R2	: Adhesive Factor/ Rabbit2
AGV	: Acide Gras Volatil
CFA	: Colonization Factors Antigen
EAggEC	: <i>E. coli</i> entéroraggrégatifs
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EEL	: Entéropathie Epizootique du lapin
EHEC	: <i>E. coli</i> entérohémorragiques
EIEC	: <i>E. coli</i> entéroinvasifs
EM	: Entéropathie mucoïde
EPEC	: <i>E. coli</i> entéropathogènes
ETEC	: <i>E. coli</i> entérotoxinogènes
LEE	: Locus d’Effacement des Entérocytes
LT	: Thermolabile (toxine)
pH	: Potentiel d’hydrogène
ST	: Thermostable (toxine)
UFC	: Unité Formant Colonies
VT	: Verotoxine
Log ₁₀	: Logarithme décimale
µg	: Micro gramme

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Licois,D. et Marlier,D., "Pathologies infectieuses du lapin en élevage rationnel", INRA Prod.Anim,V. 21,(2008), 257-268.
2. Marlier,D ., Dewrée,R., Delleur,V., Licois,D., Lassence,C.,Poulipoulis,A. et Vindevogel,H, " Description des principales étiologies des maladies digestives chez le lapin européen (*Oryctolagus cuniculus*) ",Ann.Méd.Vét,V. 147, (2003), 385-392.
3. Morel-Saives, A. et Limet, A, "Evaluation de l'impact technico-économique des maladies digestives chez le lapin d'engraissement. Intérêt de la mise en place d'un traitement", In: 12ème journée de recherche Cunicole, Le Mans, France (27-28 novembre 2007), 239-242.
4. Camguilhem, R., "Isolement d'une souche d'*Escherichia coli* (séro groupe O103), responsable d'entérite colibacillaire du lapin en engraissement. Mise en évidence de son pouvoir pathogène", Rev .Méd.Vét, V. 136, (1985), 61-68.
5. Peeters, J.E., Pohl, P., Okerman, L. et Devriese, L.A, "Pathogenic properties of *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic commercial rabbits", J .Clin. Microbiol, V. 20, n° 1, (1984b), 34-39.
6. Snipes R.L. et Snipes H., "Quantitative investigation of the intestines in eight species of domestic mammals". Int .J. Mamm. Biol, V. 62 (1997), n° 6, 359-371.
7. Mage, R ., "Immunology of Lagomorphs".In : Handbook of Vertebrate Immunology, P.Griebel, P.P., Pastoret, H., Bazin. et Govaerts, A ., Eds, Academic Press, Londres, Royaume-Uni (1998), 223-260.
8. Morisse,J.P., "Les maladies du lapin et leur traitement", In:Session ITAVI de la Rochelle, (9 et 10 décembre 1975).
9. Moilleron,G., "L'alimentation des lapins", Rev. Avic, V. 5, (2005), 187-188.
- 10.Fortun-Lamothe,L. et Gidenne,T., "Filière cunicole française et systèmes d'élevage", INRA Prod Anim,V. 3,(2008),1-3.
- 11.Harcourt-Brown,F., "Textbook of Rabbit Medecine", Butterworth Heinemann. (2002), 410p.
- 12.Gidenne,T., Carabaño., Bodiola,I.,Garcia,J. et Licois, D., " L'écosystème caecal chez le lapin domestique: Impact de la nutrition et de quelques facteurs alimentaires .Conséquences sur la santé digestive du lapereau",

In:12ème Journée de Recherche Cunicole, Le Mans,France, (27-28 Nov 2007).

13. MILON,A., “ Entérite à *Escherichia coli* du lapin : étude des facteurs de virulence des souches O103 pathogènes et applications à la vaccination“, Thèse de Doctorat universitaire, (1993), 175 pp.
14. Grange,K.S., “Mutants du « Locus d’effacement des entérocytes » (LEE) dans la vaccination contre la colibacillose O103 du Lapin“. Thèse de fin d’études. Ecole nationale vétérinaire Toulouse, (2003), 84p.
15. Gouet,P. et Fonty,G., “ Changes in the digestive microflora of holoxenic rabbits from birth until adulthood“, Biol. Anim. Biochim. Biophys , V. 19, (1979), 553-566.
16. Gouet,P. et Fonty,G., “Evolution de la flore digestive du lapin holoxénique de la naissance au sevrage“, Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys, V.13, (1973), 733-735.
17. Gidenne,T ., Combes,S ., Licois, D., Carabaño, R.,Badiola,I. et Garcia, J., “Ecosystème caecal et nutrition du lapin: interactions avec la santé digestive“, *INRA Prod. Anim* , V. 21,n° 3, (2008), 239-250.
18. Bennegadi,N., Fonty,G., Gidenne,T. et Licois,D. , “Effects of age and dietary fibre level on caecal microbial communities of conventional and specific pathogen-free rabbits“, *Microb.Ecol.Health Dis*, V. 15, (2003), 23-32.
19. Boucher,S. et Nouaille,L., “ Maladies des lapins“, France Agricole Edition, 2^{ème} édition, (2002), 271p.
20. Licois,D., “Pathologies intestinales du lapin“. *In*:Elevages et pathologies avicoles et cunicoles.3ème journée des sciences vétérinaires, ENV El-Harrach, Algérie. Publ. Comm, n°3, (2005).
21. Peeters,J.E., Pohl,P. et Charlier,G., “Infectious agents associated with diarrhea in commercial rabbits: a field study “, *Ann.Rech.Vet*,V. 15, n° 3, (1984), 335-340.
22. Licois,D., “Tyzzer's disease associated with colibacteriosis in rabbits; identification of *Bacillus piliformis* but unsuccessful isolation“, *Recueil de médecine Vétérinaire*, V. 162, n° 11, (1986), 1203-1209.
23. Lebas,F., “Les apports en physiologie digestive et métabolique“, *Cuniculture Magazine*,V. 32, (2005), 19-25.
24. Fournier,A., “L’élevage des lapins“, Artémis Editions, Paris, (2007),95p.
25. Colombo,T. et Zago,L.G., “Le lapin:Guide de l’élevage rentable“, Edition de Vecchi, Paris, (2001), 159p.

26. Lebas, F., La biologie du lapin, (2002): <http://www.cuniculture.info/Docs/Biologie/Biologie-50.htm>. Consulté le 15/05/2008.
27. Gidenne, T. et Jehl, N., "Réponse zootechnique du lapin en croissance face à une réduction de l'apport en fibres, dans des régimes riches en fibres digestibles", *In*: 8ème Journ. Rech. Cunicole, ITAVI, Paris, (9-10 Juin 1999), 109-113.
28. Licois, D. et Gidenne, T., "L'emploi d'un régime déficient en fibre par le lapereau augmente sa sensibilité vis à vis d'une infection expérimentale par une souche d'*Escherichia coli* entéropathogène", *In*: 8ème Journ. Rech. Cunicole. ITAVI. Paris, (9-10 juin 1999), 109-113.
29. Gidenne, T., Feugier, A., Jehl, N., Arveux, P., Boisot, P., Briens, C., Corrent, E., Fortune, H., Montessuy, S. et Verdelhan, S., "Un rationnement alimentaire quantitative post-sevrage permet de réduire la fréquence des diarrhées, sans dégradation importante des performances de croissance: résultats d'une étude multi-site. Cuniculture Magazine", *In*: 10ème Journ. Rech. Cunicole, INRA-ITAVI éd. Paris, (19-20 NOV 2003), 29-32.
30. Gidenne, T., Murr, S., Travel, A., Corrent, E., Foubert, C., Bebin, K., Mevel, L., Rebour, G. et Renouf, B., "Effet du niveau du rationnement et de mode de distribution de l'aliment sur les performances et les troubles digestifs post-sevrage du lapereau", *Cuniculture Magazine*, V. 36, (2009), 65-72. *In*: Journ. Nutrition. Lapin chair. ITAVI. 25 NOV 2008, Paris.
31. Arts, H.T., "Poisoning Caused by an ionophore anticoccidial drug in a commercial rabbit farm", *Tijdschr. Diergeeskd.*, V. 10, (1991), 504-507.
32. Morisse, J.P., LE Gull, G., Boillot, E. et Maurice, R., "Intoxication alimentaire chez le lapin par des résidus d'antibiotiques", *Cuniculture Magazine*, V. 90, (1989), 288-290.
33. Mezes, M., "Mycotoxins and other contaminants in rabbits feed". *Nutrition and Digestive physiology*, (2008), 491-506. *In*: 9th world. Rabbit. Congress. 10-13/Juin, Vérone, Italie.
34. Nold, D., "L'eau d'abreuvement de nos lapins", *Revue Avicole*, V. 1677, (Jan-Fév 2008), 45-48.
35. Albert, M.J., Alam, K., Ansaruzzaman, M., Montanaro, J., Islam, M., Faruque, S.M., Haider, K., Bettelheim, K. et Tzipori, S., "Localised adherence and attaching-effacing properties of non enteropathogenic serotypes of *Escherichia coli*", *Infection Immunity*, V. 59, (1991), 1864-1868.
36. Renault, L., Prim, R., Dreuille, M., Colin M. et De Dreuille, M., "Digestive disorders in fattening rabbits; Aetological and preventive approach", *Bulletin*

mensuel de la Société Vétérinaire Pratique de France, V. 63, n° 2, (1979), 119-132.

37. Peeters, J.E., Charlier, G.J. et Halen, P., "Pathogenicity of attaching effacing enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from diarrheic sucking and weanling rabbits for Newborn rabbits", *Infect.Imm*, V. 46, n°3, (1984), 690-696.
38. Blanco, J.E., Blanco, M., Blanco, J., Mora, A., Balaguer, L., Mourino, M., Juarez, A. et Jansen, w.h., "O Serogroups, Biotypes, and *eae* Genes in *Escherichia coli* Strains Isolated from Diarrheic and Healthy Rabbits", *J.Clin.Microb*, V. 34, n°12, (1996), 3101-3107.
39. Skrivanová, E., Marounek, M. et Skrivanová, V., "A note on the effect of caprylic acid on shedding of *Escherichia coli* O103 and O128 in weaned rabbits", *In: Pathology and Hygiene, 9th World Rabbit Congress*, June, Verona, Italy . (2008), 1091-1094.
40. Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H. et Stackebrandt, E., "The Prokaryotes", *A Handbook on the Biology of Bacteria*, 3ème Edition, V. 6, Proteobacteria: Gamma Subclass. Springer Science, (2006), 1240p.
41. Licois, D.; "Pathologie d'origine bactérienne et parasitaire chez le lapin: Rapport de la dernière décennie", *Cuniculture. Mag*, V. 37, (2010), 35-49.
42. Licois, D. et Coudert, P., *Le point des recherches sur l'entérocolite épizootique du lapin*. (1999)
<http://wcentre.tours.inra.fr/urbase-internet/resultants/enterocolite/entero99.html>. Site consulté le 16/03/2008.
43. Licois, D. et Larour, G., "Le point sur les travaux de recherche concernant l'entéropathie épizootique du lapin". *Cuniculture Magazine*, V.30, (2003), 03-07.
44. Scott, L., McGee, P., Walsh, C., Fanning, S., Sweeney, T., Blanco, J., Karczmarczyk, M., Earley, B., Leonard, N. et Sheridan, J.J., "Detection of numerous verotoxigenic *E.coli* serotypes, with multiple antibiotic resistance from cattle faeces and soil", *Vet.Microb*, V.134, (2009), 288-293.
45. Krag, L., Hancock, V., Aalbaek, B. et Klemm, P., "Genotypic and phenotypic characterization of *Escherichia coli* associated with porcine pyelonephritis", *Vet.Microbiol*, V.134, (2009), 318-326.
46. Ørskov, F. et Ørskov, I., "Serotyping of *Escherichia coli*", *Methods Microbiol*, V.14, (1984), 43-112.
47. Camguilhem, R. et Milon, A., "Biotypes and O serogroups of *Escherichia coli* involved in intestinal infections of weaned rabbits: clues to diagnosis of pathogenic strains", *Journal of clin. Microb*, V. 27, n°4, (1989), 743-747.

48. Okerman, L. et Devriese, L.A., "Biotypes of enteropathogenic *Escherichia coli* strains from rabbits", *J. Clin. Microb.*, V. 22, n° 6, (1985), 955-958.
49. Peeters, J.E., Geeroms, R. et Ørskov, F., "Biotype, serotype, and pathogenicity of attaching and effacing enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic commercial rabbits", *Infect. Imm.*, V. 56, n° 6, (1988), 1442-1448.
50. Levine, M.M., "*Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic and enteroadherent", *J. Infect. Dis.*, V. 155, (1987), 377-389.
51. Milon, A., Oswald, E. et De Rycke, J., "Rabbit EPEC: a model for the study of enteropathogenic *Escherichia coli*", *Vet. Res.*, V. 30, (1999), 203-219.
52. Moon, H., Ørskov, F., Rowe, B., Sack, R.B., Ørskov I., Merson, M.H. et Wahba A.H., "Les diarrhées à *Escherichia coli*", Un travail du groupe scientifique de l'OMS. *Bult OMS*, V. 58, n° 6, (1980), 831-847.
53. Mubita, C., Sykalima, M., Chisenga, C., Munyeme, M., Bwalya, M., Chifumpa, G., Sinkala, P., Yasuda, J. et Isogai, E., "Antibiograms of faecal *Escherichia coli* and *Enterococci* species isolated from pastoralist cattle in the interface areas of the Kafue basin in Zambia", *Vet. Archv.*, V. 78, n° 2, (2008), 179-185.
54. Drolet, R., Fairbrother, J.M., Harel, J. et Helie, P., "Attaching and effacing and enterotoxigenic *Escherichia coli* associated with enteric colibacillosis in the dog", *Canadian Journal of Veterinary Research*, V. 58, n° 2, (1994), 87-92.
55. Hohmann, A. et Wilson MR., "Adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to intestinal epithelium in vivo", *Infection and Immunity*, V. 12, n° 4, (1975), 866-880.
56. Pohl, P.H., Peeters, J.E., Jacquemin, E.R., Lintermans, P.F. et Mainil, J.G., "Identification of *eae* Sequences in Enteropathogenic *Escherichia coli* Strains from Rabbits", *Infection and Immunity*, V. 61, n° 5, (1993), 2203-2206.
57. Akam, A., Bouyoucef, A., Rahal, Kh., Lafri, M., Kaidi, R., Khelef, D. et Chirilă, F., "Fréquence d'isolement et antibiorésistance des souches d'*Escherichia coli* F5+ isolées chez les veaux de la Mitidja", *Bult. USAMV-CN*, V. 64, n° 1-2, (2007), 20-25.
58. Sansonetti, P.J., "Facteurs de pathogénicité de *Escherichia coli*", *Ann. Inst. Pasteur Microbiol.*, V. 10, (1990), 21-37.
59. Lior, H. et Gyles, CL., "Classification of *Escherichia coli*", *Escherichia coli in domestic animals and humans*, (1994), 31-72.

60. Licois, D., "Enteropathogenic *Escherichia coli* from rabbits", Article de synthèse. Ann. Rech. Vét, V. **23**, n° 1, (1992), 27-48
61. Riley, L.W., Lewis, R.S., Helgerson, S.D., Mc Gee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., Herbert, R.J., Olcott, E.S., Johnson, L.M., Hargerett, N.T., Blake, P.A. et Cohen, M.L., " Haemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype" , N. Engl. J. Med, V.30, n°8, (1983), 681-685.
62. Fegan, N., Higgs, G., Vanderlinde, P. et Desmarchelier, P., "Enumeration of *Escherichia coli* O157 in cattle faeces using most probable number technique and automated immunomagnetic separation", Letters in Applied Microbiology, V.38, (2003), 56-59.
63. Scotland, S.M., Willshaw, G.A., Smith, H.R. et Rowe, B., "Properties of strains of *Escherichia coli* O26:H11 in relation to their enteropathogenic or enterohemorrhagic classification", Journal of Infectious Diseases, V.162, n°5, (1990), 1069-1074.
64. Feder, I., Wallace, M.F., Gray, J.T., Fratamico, P., Fedorka-Cray, P.J., Pearce, R.A., Call, J.E., Pierrine, R et Luchansky, J.B., "Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from intact colon fecal samples of swine", Emrg.Inf.Dis, V.9, n°3, (2003), 380-383.
65. Ludwig, K., Karmali, M.A., Smith, C.R. et Petric, M., "Cross-protection against challenge by intravenous *Escherichia coli* verocytotoxin 1 (VT1) in rabbits immunized with VT2 toxoid", Can. J. Microbiol, V.48, (2002), 99–103.
66. Edelman, R., Levine, MM., "Summary of a workshop on enteropathogenic *Escherichia coli* ", J. Infect. Dis, V.147, (1983) 1108-1118.
67. Okerman, L., "Diseases of Domestic Rabbits", Translated by Sundahl R. Black Well Scientific Publications, London, (1988), 152p.
68. Moon, H.W., Whipp S.C., Argenzio, R.A., Levine, M.M., Gianella, R.A., "Attaching and effacing activities of rabbit and human enteropathogenic *Escherichia coli* in pig and rabbit intestines", Infection and Immunity, V. 41, n°3, (1983), 1340-1351.
69. Milon, A., " Entérite à *Escherichia coli* du lapin : étude des facteurs de virulence des souches O103 pathogènes et applications à la vaccination". Thèse de Doctorat universitaire, (1993), 175 pp.
70. Dwight Hirish, C. et Yuan Chung, Z., Veterinary Microbiology. Blakwell Science Edition, (2002), 479p.
71. Moulin, G; Martel, J.L ; Guillo, J.F. et Libmann, T.M., "Mise en évidence de *Escherichia coli* K99+ dans les fèces des vaches et de leurs veaux", Ann.Rech.Vét, V.14, n°2, (1983), 121-127.

72. Okerman, L., "Enteric infections caused by non-enterotoxigenic *Escherichia coli* in animals: occurrence and pathogenicity mechanisms", A review. *Veterinary Microbiology*, V.14, n°1, (1987), 33-46.
73. Janke, B.H., Francis, D.H., Collins, J.E., Liba, I.M.C., Zeman, D.H. et Johnson, D.D., "Attaching and effacing infections in calves, lambs and dogs", *J. Vet. Diagn. Invest*, V.1, (1989), 6-11.
74. Cantey, J.R., Blake, R.K., "Diarrhea due to *Escherichia coli* in the rabbit: a novel mechanism", *J. Infection Dis*, V.135, (1977), 454-462.
75. Peeters, J.E., Charlier, G.T. et Raeymaekers, R., "Scanning and transmission electron microscopy of attaching and effacing *Escherichia coli* in weanling rabbits", *Vet. Pathol*, 22, (1985), 54-59.
76. Knutton, S., "Attaching and effacing *Escherichia coli*", *Escherichia coli* in domestic animals and humans, (1994), 567-586.
77. Tesh, V.L. et O'Brien, A.D., "Adherence and colonization mechanisms of enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*", Mini-review. *Microb. Pathog*, V.12, (1992), 245-254.
78. Benz, I., Schmidt, M.A., "Diffuse adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* strains", *Res. Microbiol.*, V.141, (1990), 785-786.
79. Marchès, O., Nougayrède, J.P., Boullier, S., Mainil, J., Charlier, G., Raymond, I., Pohl, P., Boury, M., De Rycke, J., Milon, A. et Oswald, E., "Role of Tir and Intimin in the virulence of Rabbit Enteropathogenic *Escherichia coli* Serotype O103:H2", *Infect. Immun*, V. 68, n° 4, (2000), 2171-2182.
80. Jerse, A.E., Yu, J., Tall, B.D. et Kaper, J.B., "A genetic locus of enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the production of attaching and effacing lesions on tissue culture cells", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *Microb*, V. 87, (1990), 7839-7843.
81. Zhu, C., Agin, T.S., Elliott, S.J., Johnson, L.A., Thate, T.E., Kaper, J.B. et Boedeker, E.C., "Complete nucleotide sequence analysis of the Locus of Enterocyte Effacement from Rabbit Diarrheagenic *Escherichia coli* RDEC-1", *Infect. Immun*, V. 69, n° 4, (2001), 2107-2115.
82. Knutton, S., Baldwin, T., Williams, P.H. et Mc Neish, A.S., "Actin accumulation at sites of bacterial adhesion to tissue culture cells: basis of a new diagnostic test for enteropathogenic and enterohemorrhagic *E. coli*", *Infection Immunity*, V. 57, (1989), 1290-1298.
83. Peeters, J.E., "Enteropathogenic strains of *Escherichia coli* in rabbits", *Ann. Méd. Vét*, V. 137, n° 5, (1993), 361-368.

84. Cantey, JR., Inman, L.R. et Blake, R.K., "Production of diarrhea in the rabbit by a mutant of *Escherichia coli*(RDEC-1) that does not express adherence(AF/R1) pili", J. Infect. Dis, V. 160, (1989), 136-141.
85. Cantey, J.R., Lushbaugh, W.B. et Inman, L.R., "Attachment of bacteria to intestinal epithelial cells in diarrhea caused by *Escherichia coli* strain RDEC-1 in the rabbit: stages and role of capsule", J. Infect. Dis , V.143, (1981), 219-230.
86. Renault, L., Vaissaire, J., Maire, C., LE Bourhis, E. et Labadios, J.P., "Rôle d'*Escherichia coli* dans l'étiologie des diarrhées du lapin", In : Journ. Rech. Avicole et Cunicole, Paris ITAVI-WPSA.Ed.ITAVI, (1973), 29-33.
87. Licois, D., Guillot, JF., Coudert, P. et Renault, L., "Diarrhée expérimentale du lapin: étude de la pathologie due à des coccidies intestinales (*E. intestinalis*) et à des *E. coli*", In : C.R. des 3èmes Journ. Rech. Cunicole, INRA ITAVI, Paris, (1982), Communication n° 27.
88. Renault, L., Roux, J., Le Bourhis, E., Coudert, P., Licois, D. et Guillot JF., "Description d'un séro groupe(O103) d'*Escherichia coli* entéropathogène chez le lapin au sevrage", Bull. Acad. Vét. Fr, V. 56, (1983), 387-400.
89. Camguilhem, R., Lebas, F. et Labie, C., "Reproduction expérimentale chez le lapin en engraissement d'une diarrhée provoquée par une souche de *Escherichia coli* de séro groupe O-103", Ann.Rech.Vét, V. 17, n° 14, (1986), 409-424.
90. Licois, D., Reynaud, A., Federighi, M., Gaillard-Martinie, B., Guillot, J.F. et Joly, B., "Scanning and transmission electron microscopic study of adherence of *Escherichia coli* O103 enteropathogenic and/or enterohemorrhagic strain GV in enteric infection in rabbits", Inf. Immun, V. 59, n° 10, (1991), 3796-3800.
91. Reynaud, A. et Federighi, M., "Study of virulence of *Escherichia coli* O103 responsible for enteritis in rabbits", Rev. Méd. Vét, V.142, n° 11, (1991), 817-821.
92. Milon, A., Esslinger, J. et Camguilhem, R., "Oral vaccination of weaned rabbits against enteropathogenic *Escherichia coli* -like *E. coli* O103 infection: use of heterologous strains harboring lipopolysaccharide or adhesin of pathogenic strains", Inf. Immun, V. 60, n° 7, (1992), 2702-2709.
93. Bouillier, S., Nougatède, J.P., Marches, O., Tasca, C., Boury, M., Oswald, E., De Rycke, J. et Milon, A., "Genetically engineered enteropathogenic *Escherichia coli* strain elicits a specific immune response and protects against a virulent challenge", Microbes and Infection, V. 5 , (2003), 857-867.
94. Bohez, L., Maertens, L., Laevens, H., Stakenborg, T., Peeters, J. et Vandekerchove, D., "Use of a 3-/O15 Δ *eae* enteropathogenic *Escherichia coli* vaccine in a rabbitry with mixed enteropathy problems: spreading

- characteristics and protective effect“, *In : 8th World Rabbit Congress*, 7-10 septembre, Puebla city, Mexique, V.1 , (2004), 439-444.
95. Bohez, L., Stakenborg, T., Laevens, H., Peeters, J. et Vandekerchove, D., “An attenuated 2+/O132 Δtir enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) offers cross protection against a 3-/O15 challenge and partial protection against an 8+/O103 challenge“, *In : 8th World Rabbit Congress*, 7-10 septembre 2004, Puebla city, Mexique, V. 1 , (2004), 445-450.
 96. Tonelli, A., Badaoliacca, P., Brunaut, G., Letizia, A., Di Provvido, A., Harel, J. et Scacchia, M., “Genetic characterization of rabbit *Escherichia coli* strains with the use of microarray technology“, *Pathology and Hygiene*, *In: 9th World Rabbit Congress*, Vérone, Italie, (10-13 Juin 2008), 1097-1101.
 97. Pérez de Rozas, A.M., Rosell, J.M., Diaz, J.V., Carabaño, R., Garcio, J., González, J., Aloy, N. et Badiola, I., *Pathology and Hygiene. In: 9th World Rabbit Congress*, Verona, Italie, (10-13 juin 2008).
 98. Perugini, A.G.; Cerrone, A.; Agnoletti, F., Mazzolini, E.; Fenizia, D.; Bartoli, M.; Cattoli, G.; Bano, L. et Capuano, F., “Caractérisation de la résistance aux antibiotiques et identification des gènes de résistance de souches d'*Escherichia coli* entéropathogènes (EPEC) du lapin en Italie“, *In: 11^{ème} Jour.Rec.Cunicole*, Paris, (29-30 novembre 2005).
 99. Ashraf, M.A., Younis Emad, E.A., Osman, S.A., Ishida, Y., El-Khodery, S.A. et Shimamoto, T., “Genetic analysis of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from diarrheic neonatal calves“, *Vet. Microb*, V. 136, (2009), 397-402.
 100. Martins da Costa, P., Belo, A., Gonçalves, J. et Bernardo, F., “Field trial evaluating changes in prevalence and patterns of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* and *Enterococcus spp.* Isolated from growing broilers medicated with enrofloxacin, apramycin and amoxicillin“, *Vet. Microb*, V.139, (2009), 284-292.
 101. Donald, J. K., Greenberg, R.N., Dunn, J.A., Abernathy, R., Ryerse, J.S. et Guerrant, R.L., “Effects of *Escherichia coli* Heat-Stable Enterotoxin STb on intestines of Mice, Rats, Rabbits, and Piglets“, *Infct. Immun*, V. 46, n° 3, (1984), 639-643.
 102. Robins-Browne, R.M.; Tokhi, A.M.; Bennett-Wood, V.; Moisisidis, A.V.; Krejany, O.E. et O’Gorman, L.E., “Adherence characteristics of attaching and effacing strains of *Escherichia coli* from rabbits“, *Infct. Immun*, V. 62, n°5, (Mai 1994), 1584-1592.
 103. Igbokwe, O.I.; Salako, M.A.; Rabo, J.S. et Hassen, S.U., “ Outbreak of infectious disease associated with acute septicaemic colibacillosis in adult prelayer hens“, *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop*, V. 49, n° 2, (1996), 110-113.

104. Le Minor, L. et Richard, C., "Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries", Institut Pasteur, Paris, France, (1993), 217p.
105. National Committee for Clinical Laboratory Standards., "Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria isolated from Animals", Approved Standard M31A, V. 19, n° 11, (1999), National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.
106. National Committee for Clinical Laboratory Standards ., "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing" M100-S11, V. 21, n° 1, (2001), National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA
107. Vanderkerchove, D. et Peeters, J.E., "Détection d'anticorps spécifiques contre des souches d'*Escherichia coli* entéropathogènes (EPEC) chez le lapin par un test ELISA utilisant des protéines de 94Kilodaltones", World. Rabbit.Science, V. 6, (1998), 12-15.
108. Stakenborg, T., Vandekerchove, D., Mariën, J., Laevens, H., Imberechts H. et Peeters, J., " Protection of rabbits against enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) using an intimin null mutant", BMC.Vet.Resch, V. 2, n° 22, (2006), 1-10.
109. Jaouzi, T., Barkouk, A., El Maharzi, L., Bouzekraoui, A. et Archa, B., "Etude sur les systèmes de production cunicole au Maroc", Cuniculture Mag, V. 33, (2006), 99-110.
110. Lebas, F. et Bolet, G., "Impressions sur l'élevage du lapin en Tunisie", Cuniculture Mag, V. 35, (2008), 68-76.
111. Bergaoui, R., "L'élevage du lapin en Tunisie peut contribuer à résoudre le problème de déficit en viande du pays", Option Méditerranéennes, Série Séminaires, n° 17, (1992), 23-32.
112. Daoudi, O., Ainbaziz, H., Yahia, H., Benmouma, N. et Achouri, S., " Etude des normes alimentaire du lapin local algériens élevé en milieu contrôlé : effet de la concentration énergétique et protéique des régimes", *In* : 10^{ème} Journ.Rech.Cunicole, INRA-ITAVI, 19-20/nov/2003, Paris, ITAVI éd. Paris, 21-23.
113. Aired, S. et Semsar, S., "Variation des concentration hormonales en fonction du mode d'éclairage chez les lapines de population locale. In : 3ème Journ.Sciences.Vet. Elevages et pathologies avicoles et cunicoles. 10-11/Dec/2005. ENV-El Harrach, Alger, Algérie.
114. Belabbas, R., "Etude des principales composantes biologiques de la prolificité et facteurs de variation du poids foetal chez la lapine de population locale", Mémoire de Magistère, Option : Elevage et pathologie avicole et cunicole, ENV-El Harrach, Alger, (2010), 141p.

115. El Yassouri, A., El Idrissi, I., Jaouzi, T. et Bengoumi, M., " L'entérocolite épizootique du lapin au Maroc : enquête écopathologique. In : 23^{ème} Congrès vétérinaire Maghrébin ; (2006) ; El-Hammamet, Tunisie.
116. Benkacimi, S. et Benfad, A., "Perspective et diagnostic des coccidies du genre *Eimeria* chez le lapin et contribution à une étude statistique des coccidioses dans quatre stations d'élevage cunicole dans la région de la Mitidja". Projet de fin d'étude, Univers Saad Dahleb-Blida, Faculté des Sciences Bio-Vétérinaires (2010), 85p.
117. Fabiani, G., Bactériologie Médicale in Dumas,(1974), 103p.
118. Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS, (2008)
119. Becquet, V., "La méthodologie de l'enquête", (1998), http://www.animafac.net/article.php3?id_article=150.
120. Rahal, K., Mohamed Said, R., Djabri, B., Amine, F., Bendali, F., Hamaidi, F. et Ferroukh, M., " comment mener a bien un projet de fin d'étude", Mini Guide Méthodologique, (2004), 16p.
121. Salifou Djibril, R., "Diagnostic nécropsique et causes bactériologiques de mortalité des lapins (*Oryctolagus cuniculus*) élevés au sud Bénin", Thèse pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur des Travaux, (2007), 80p.
122. Combes, S., "Valeur nutritionnelle de la viande de lapin", INRA. Prod.Anim, V.17, n° 5, (2004), 373-383.
123. Lebas, F., "Le marché du lapin en France en 2005 et 1ers chiffres pour 2006", Cuniculture Mag, V. 33, (2006), 111-116.
124. Hinton, M., "Diseases in adult rabbits: an analysis of the post-mortem findings in 180 rabbits", Vet.Méd.Rev, V. 12, (1977), 183-192.
125. Fontaine, M., "Vade-mecum du vétérinaire: Formulaire vétérinaire de pharmacologie, de thérapeutique et d'hygiène", Office des Publications Universitaires, Alger, 15^{ème} Edition; (1988), 1642p.
126. Camguilhem, R. et Milon, A., "Entérite du lapin à *Escherichia coli* O10. Essais de vaccination", Productions Animales INRA, V. 4, n° 2, (1991), 131-140.
127. Peeters, J.E., " Troubles digestifs chez le lapin chair:causes et prévention", Rev.Agric, n° 40, (1987), 1239-1254.
128. Gidenne, T., "Recent advances in rabbit nutrition: emphasis on fibre requirements", A review.World Rabbit sci, V. 8, (2000), 23-32.

129. Fortun-Lamothe, L. et Gidenne, T., "Stratégies d'alimentation autour du sevrage: Relation avec la digestion et les besoins nutritionnels du lapereau", *World.Rabt.Sci*, V. 9, (2001), 30-35.
130. Fortun-Lamothe, L. et Gidenne, T., "Besoins nutritionnels du lapereau et stratégies d'alimentation autour du sevrage", *INRA Prod.Anim*, V. 16, n° 1, (2003), 41-50
131. Licois, D., "Risques associés à l'utilisation des antibiotiques chez le lapin", *Une mini revue. World Rabbit Science*, V. 4, n° 2, (1996), 63-68
132. Blas, E., Concha, C. et Fernandez-Carmona, J., "Effect of two diets with varied starch and fibre levels on the performances of 4-7 weeks old rabbits", *World.Rabbits.Science*, V. 2, n° 4, (1994), 117-121.
133. Fortun-Lamonthe. et al., "Utilisation autour du sevrage d'une alimentation riche en énergie et en fibres: effet bénéfique sur la santé des lapereaux sans altérations des performances de reproduction des femelles", *Cuniculture.Mag*, (2006), V. 33, 35-42.
134. Lebas, F., "Alimentation et santé digestive chez le lapin", *Cuniculture. Magazine*, V.33, (2006), *In: Journée de Formation sur Alimentation et santé digestive chez le lapin, organisée par l'ASFC et L'AFTAA*, 63-70
135. Boucher, S. et Morel Saives, A., "Intérêt de la recherche du gène "eae" chez les *E.coli* de lapins d'élevage présentant des lésions attribuables à la colibacillose", *In: 13ème Jour.Rech.Cunicole*, Le Mans,France, (17-18 Nov 2009).
136. Padiha, MTS., Licois, D., Gidenne, T., Carré, B. et Fonty, G., "Relationships between microflora and caecal fermentation in rabbits before and after weaning. *Reprod*", *Nutr. Dev*, V. 35, (1995), 375-386.
137. Skrivanová ,E., Molatová, Z., Skrivanová, V. et Marounek, M., "Inhibitory activity of rabbit milk and medium-chain fatty acids against enteropathogenic *Escherichia coli* O128", *Vet.Microb*, V.135, (2009), 358-362.
138. Gay, E., Jouy, I., Chazel, M., Meunier, D., Haenni, M., Calavas, D. et Madec, J-Y., "Apport du Résapath à la problématique de l'antibiorésistance en santé animale", analyse des données recueillies en 2008 sur *Escherichia coli* dans les différentes filières animales, *Bulletin Epidemiologique* n°36, 6-9.
139. Devie, P., Divol, A., Gilbert, G., Laurent, S., Le Goaziou, A., Olivon, M. et Petit, M., "Les antibiotiques dans l'alimentation animale", *Mémoire de fin d'étude*, Lyon.France, (2006), 30p.