

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



Institut des Sciences
vétérinaire – Blida 1

Université Saad
Dahlab -Blida 1



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**L'antibiorésistance chez *Escherichia coli* isolés dans les matières
fécales des bovins**

Présenté par

Yasmine MERROUKI

Devant le jury :

Président :	MSELA A.	MAA	ISV-Blida1
Examineur :	BESBACI M.	MCB	ISV-Blida1
Promoteur :	SADI M.	MAA	ISV-Blida1

Année universitaire : 2019 /2020

ملخص:

إنّ عملنا هذا يهدف إلى دراسة ملامح مقاومة الكثير من سلالات الإشريكية القولونية (العُصَيَات القولونية) للمضادات الحيوية . و إنّ ما مجموعهُ خمسون سلالةً مُتأْتِيَةً مِنْ عَيِّنَاتٍ مُخْتَلِفَةٍ مِنْ بُرَازِ المَواشِي تَمَّ عَزْلُهَا وَ تَحْدِيدُهَا وَ هَذَا فِي أَوْسَاطٍ خَاصَةٍ بِعَزْلِ العُصَيَاتِ القُولُونِيَّةِ وَأَوْسَاطِ تَحْدِيدِ الكِيمِيَاءِ الحَيَوِيَّةِ . وَ قَدْ تَمَّ اخْتِبَارُ الحَسَاسِيَّةِ عَلَى عَشْرِ مُضَادَاتِ حَيَوِيَّةٍ حَسَبِ الطَّرِيقَةِ الكِلَاسِيكِيَّةِ لِقِيَاسِ المَضَادَاتِ الحَيَوِيَّةِ فِي وَسْطِ أَجَارِ مَوْلر- هينتون .

لقد أظهر التحليل بتقنية قياس المضادات الحيوية مقاومةً ذاتَ مستويات عالية للنتراسيكلين (40%) ، و مستويات متوسطة لكل من الأمبيسيلين والأموكسيسيلين + حمض الكلافولانيك (36%) و (28%) على التوالي. متبوعاً ب ستيتومايسين (32%) سلفاميثوكسازول / تريميثوبريم (30%). و مستوياتٍ منخفضةٍ للجنتاميسين (18%) متبوعاً بإنروفلوكساسين (4%) . إنّ السيفالوسبورينات هي المضادات الحيوية التي لا يوجد لها مقاومة و خمسون سلالة تُعْتَبَرُ حَسَاسَةً .

و مِنْ جِهَةٍ أُخْرَى فَقَدْ أَظْهَرَ تَحْلِيلُ مَلَامِحِ المَقَاوِمَةِ أَنَّهُ مِنْ بَيْنِ السَّلَالَاتِ الخَمْسِينَ يَوجَدُ 52% مِنْهَا مَقَاوِمَةً لِمُضَادَّيْنِ حَيَوِيَّيْنِ اثْنَيْنِ عَلَى الأَقْلِ .

هذه المقاومة تمثّل خطراً على الحيوان و كذا الإنسان علماً أنّ العلاج بالمضادات الحيوية يبقى الوسيلة الوحيدة للتحكم في العُصَيَاتِ القُولُونِيَّةِ .
الكلمات المفتاحية: الإشريكية القولونية ، المادة البرازية مقاومة المضادات الحيوية .

Résumé

Notre travail a pour objectif l'étude du profil de résistance aux antibiotiques de plusieurs souches d'*Escherichia coli*. Un total de 50 souches provenant de différents prélèvements de matières fécales de bovins ont été isolées et identifiées et ceci sur des milieux spécifiques à l'isolement d'*E. Coli* et des milieux d'identification biochimiques. La sensibilité a été testée sur 11 antibiotiques suivant la méthode classique de l'antibiogramme en milieu gélosé Mueller-Hinton.

Les antibiogrammes ont montré de hauts niveaux de résistance pour les tétracyclines (40 %). Des niveaux moyens de résistance pour ampicilline et amoxiciline+acide clavulanique (36 %) et (28 %) respectivement. Suivie de streptomycine (32 %) sulphamethoxazole /trimethoprim (30%). Et des niveaux bas pour gentamycine (18%) suivie l'enrofloxacin (4%),. Les céphalosporines sont les antibiotiques pour lesquels, il n'y avait pas de résistances, les 50 souches sont toutes sensibles.

Par ailleurs, l'analyse des profils de résistance a révélé que parmi les 50 souches, 52 % souches sont résistantes à au moins 2 antibiotiques.

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

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

Abstract

Our work aims to study the antibiotic resistance profile of several strains of *Escherichia coli*. A total of 50 strains from various samples of bovine faeces were isolated and identified on media specific to the isolation of *E. Coli* and biochemical identification media. Sensitivity was tested on 10 antibiotics according to the standard method of antibiogram in Mueller-Hinton agar medium.

Antibiograms showed high levels of resistance for tetracyclines (40%). Average resistance levels for ampicillin and amoxicilin + clavulanic acid (36%) and (28%) respectively. Followed by streptomycin (32%) , sulphamethoxazole / trimethoprim (30%). And low levels for gentamycin (18%) followed by enrofloxacin (4%) ,. Cephalosporins are the antibiotics for which there was no resistance, 50 strains are susceptible.

Furthermore, analysis of resistance patterns revealed that among the 50 strains, 52% of the strains are resistant to at least 2 antibiotics.

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

Key words: *Escherichia coli*, faeces, antibiotic resistance.

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout Puissant, de m'avoir donné la force, la patience et la volonté pour achever ce modeste travail.

*Mes premiers et sincères remerciements vont d'abord à mon promoteur Mr **SADI Madjid** pour ses précieux conseils éclairés, son appui constant, sa compréhension et sa gentillesse, la confiance qu'il m'avait accordé et la mise à ma disposition des moyens nécessaires pour le bon déroulement, tout au long, de ce travail. Travailler avec lui restera à jamais un grand honneur pour moi.*

Mes profonds remerciements sont adressés au :

*Dr. **MSELA A.** pour avoir accepté de présider le jury. Hommages respectueux.*

*Dr. **BESBACI M.** Pour avoir accepté de participer à mon jury de mémoire. Sincères remerciements.*

*Je tiens à remercier particulièrement Mr **TAHRIKT Sofiane** à qui je dois exprimer mon respect et ma reconnaissance pour son aide, ses précieux conseils et sa bonne humeur.*

*J'adresse un grand remerciement à Mme **RAZALI Kahina** pour l'aide si précieux qu'elle a pu me donner ainsi qu'a ses conseils motivants.*

Je ne saurai oublier d'exprimer ma profonde sympathie à l'ensemble de l'équipe du Laboratoire des Biotechnologies liées à la Reproduction Animale (LBR). Pour leurs accueil, conseils et leur gentillesse toujours chaleureux au sein du laboratoire.

*J'exprime ma gratitude et mon profond respect à tous les enseignants que je leur serai toujours reconnaissante, Mme **AMMI et a** à tous les enseignants qui ont participé à ma formation.*

Je finirais par remercier tous ceux que j'avais oubliés de nommer et qui auraient contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail...
Aux lumières qui ont toujours éclairées mon chemin
Aux sources de mon énergie
A ceux que
J'ai le plus chers au monde :
Ma mère et mon père

De m'avoir si bien éduquée et enseigner pour arriver à ce jour et surtout pour le soutien moral, je tiens à leur dire aussi que je ne pourrais qu'être fière d'eux. En hommage à *tous les sacrifices que vous avez consenti pour moi* je ne serais jamais à cette place sans eux je serais reconnaissante toute ma vie. Aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer réellement votre juste valeur, mon profond amour, mon respect et ma vive gratitude. Cette thèse est le fruit de toutes vos peines, vos inquiétudes, votre confiance et votre amour. Je vous aime énormément que dieu vous protège et vous garde pour nous.

A Mes adorables Sœurs les prunelles de mes yeux **Lilia** et **Chahinez** a votre soutien et votre présence à mes côtés. A cette force que nous n'avons qu'à trois. Je vous souhaite une vie meilleure, unie en bonne santé. Je vous aime tellement.

A mes chères **tantes, oncles, cousines** et **cousins** pour leur présence et leurs précieux conseils.

A ma chère grand-mère **Zaza** que dieu la garde et la protège.

A la mémoire de mon très cher grand-père **Abd el kader** que je voulais tant qu'il soit présent à mes côtés pour me soutenir, ainsi qu'à ma chère grand-mère **Safia** que dieu les accueille dans son vaste paradis

A ma nièce **Halla** et le petit **Ayoub** qui me remonte le moral avec son petit sourire.

A ma source du Bonheur mon petit loulou ma peluche d'amour mon **Léo** que j'aime qui est toujours présent à mes côtés.

A mes amies **Meriem, Amina, Amel**, **Meriem** qui m'ont aidées sur tous les parcours merci pour tout.

A Mr **Sadi** mon promoteur qui m'a tant aidé avec son attitude très aimable, son attention, ainsi qu'à sa méthode de travail simplifier et son savoir faire. Je vous remercie de tout mon Cœur.

A tous mes collègues d'étude.
A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour.

Yasmine

Listes de tableaux

Tableau 1 : Caractères biochimiques d'E. coli (G., 2007)	4
Tableau 2 : Nombre de prélèvements positifs par tranche d'âge.....	25
Tableau3 : Nombre de prélèvements selon le sexe.	25
Tableau4 Résultats des antibiogrammes.	27
Tableau5 Fréquence des multi résistances d'E.coli.....	28

Listes des figures

Figure 1: les différents mécanismes d'acquisition de résistance chez les bactéries (d'après c. bouvier-slekovec).....	12
Figure 2 : Différents modes d'action des antibiotiques ((Koulikoff, 2018)	15
Figure3 : Boite pétri avec gélose MacConkey (photo personnelle).	20
Figure4 : Boite pétri avec gélose MacConkey avec apparitions des colonies rose après incubation (photos personnelles).....	20
Figure : 5 galerie API 20E (Photo personnelle).	23
Figure 6 : Colonies d'Escherichia coli sur gélose MacConkey [photo personnelle]	26

Sommaire

Résumé

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des Figures

Sommaire

1 .Introduction :

2. Caractéristiques :.....	3
2.1 Caractères morphologiques et culturaux :.....	3
2.2 Caractères biochimiques :.....	3
2.3 Caractères moléculaires :.....	4
3. Les pathogènes intestinaux :.....	5
3.1. Les Escherichia coli enterotoxinogenes (ETEC):.....	5
3.2. Les Escherichia coli enteroinvasives (EIEC):.....	5
3.3. Les Escherichia coli à adhesion diffuse (DAEC):.....	6
3.4. Les Escherichia coli entero-agregatives (EaggEC, ou EAEC).....	6
3.5. Les Escherichia coli entero-pathogenes (EPEC).....	7
3.6. Les Escherichia. coli enterohemorragiques (EHEC):.....	8
3.7. Les « Shiga-toxin producing enteroaggregative E. coli » (STEAEC).....	9
4. Les pathogènes extraintestinaux.....	9
5. La résistance bactérienne aux antibiotiques.....	10
5.1 Résistance naturelle.....	11
5.2 Résistance acquise.....	11
6. L'antibiotique.....	13
6.1. Mécanisme d'action des antibiotique.....	13
6.1.1 Le support génétique de la résistance :.....	13
6.1.2 La résistance chromosomique : (Clermont O B. S.).....	14
6.1.3 La résistance extra chromosomique : les plasmids.....	14
6.2 β -lactamines:.....	15
6.2.1 Structure et classification.....	15
6.2.2 Inhibiteurs de β -lactamases.....	16
6.2.3 Mécanisme d'action.....	16
6.2.4 Cas particulier de BLSE :.....	16
ETUDE EXPERIMENTALE.....	18
1. Objectifs de l'étude :.....	18

2. Cadre de l'étude :.....	18
3. Matériel et Méthodes :	18
4. Résultats	25
4.1 Distribution des prélèvements en fonction de l'âge :	25
4.2 Distribution des prélèvements en fonction du sexe :	25
4.3. Examen bactériologique :.....	25
Discussion	29
Conclusion	33
Références bibliographiques	34

1 .Introduction :

Escherichia coli appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles à coloration Gram négative, non sporulés, aero-anaérobies facultatifs et qui ne possèdent pas d'oxydase. Le genre *Escherichia* compte 5 espèces: *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermanii*, *E. vulneris* et *E. blattae*. L'espèce *E. coli* est considérée comme un hôte normal, c'est-à-dire commensal, de la microflore digestive de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud.

La niche écologique de cette bactérie se trouve dans la couche de mucus sécrétée par l'épithélium du côlon. Etant donné qu'elle est hautement compétitive dans cet environnement, *E. coli* reste la bactérie anaérobie facultative la plus abondante dans le côlon humain, dans celui d'autres mammifères et des oiseaux ((Freter, 1993), (Kaper, 2004.), (Russo, 2000)). Les souches commensales de *E. coli* sont donc très bien adaptées à une « coexistence pacifique » avec l'hôte. Les premières classifications des souches de *E. coli* étaient basées sur le type antigénique du lipopolysaccharide (O), de la capsule (K) et des flagelles (H). On dénombre plus de 173 antigènes O, 80 antigènes K et 56 antigènes H (Orskov, 1992.).

Escherichia coli a été décrit pour la première fois en 1885 par Theodore Escherich comme étant *Bacterium coli* commune (Escherich 1885). Ce microorganisme fait maintenant partie de la famille des *Enterobacteriaceae* (Holt, 1994.). La bactérie *E. coli* est un membre du groupe des coliformes, car elle est capable de croître à des températures relativement élevées (44.5 °C) (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* thermotolérants dans les échantillon Ec-BCIG 1.0, Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs du Québec, 2013). Sa présence dans l'eau évoque généralement une contamination récente de celle-ci par des matières fécales et marque une présence susceptible d'agents pathogènes tels que les bactéries, les virus ou encore les parasites à l'origine des maladies (K., 2017.). La bactérie *E. coli* est retrouvée souvent au niveau de l'appareil génital féminin ou elle peut causer une colonisation vaginale ou une colonisation endocervicale ; encore responsable d'autres infections chez les femmes enceintes telles que les infections intra-amniotiques et

puerpérales et des infections néonatales telles que la septicémie néonatale précoce et tardive (Vila J, 2016).

Les infections urinaires et les septicémies néonatales constituent un problème majeur de santé publique et les souches extra-intestinales de la bactérie *E. coli* sont à l'origine de ces pathologies (Guiral E, 2011).

Chez les animaux, *E. coli* est responsable de plusieurs pathologies, intra-intestinales et extra-intestinales, telle que les entérites chez les différentes espèces animales; les MRC, les salpingites chez les volailles, les mammites colibacillaires chez les ruminants et les intoxications alimentaires chez les carnivores.

Les *Escherichia coli*, bien que considérés par beaucoup comme pathogènes secondaires, représentent l'une des plus importantes causes de pertes économiques. Elles conduisent à l'utilisation de nombreux traitements antibiotiques avec les risques d'émergence de résistance qui les accompagnent, ce qui représente une menace majeure pour la santé publique.

C'est donc en raison de l'impact à la fois sanitaire et économique des *E coli* et du risque d'émergence des résistances aux antibiotiques que nous avons entrepris cette étude.

L'objectif de cette étude est d'isoler et de déterminer des résistances des souches d'*Escherichia coli* isolées des matières fécales bovines envers les antibiotiques les plus utilisés.

2. Caractéristiques :

2.1 Caractères morphologiques et culturels :

Escherichia coli ou colibacille est une bactérie asporulée mesurant 2 à 4 μ de long sur 0,4 à 0,6 μ de large. C'est une bactérie fine et allongée à extrémité arrondie, mobile grâce à une ciliature péritriche. Ce germe, non exigeant sur gélose ordinaire, il donne des colonies lisses, brillantes et homogènes. Sa température de croissance optimale est de 37 °C (G., 2007)

2.2 Caractères biochimiques :

E. coli possède une catalase mais est dépourvu d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces galeries permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille. Ces caractères sont regroupés dans le (tableau I) (Oulymata. G., 2007). La plupart des souches fermentent le sorbitol en dehors du sérotype O157 : H7. Ces caractéristiques biochimiques sont partagées par l'ensemble des souches d'*E. coli* en dehors de certains mutants qui sont dépourvus de l'enzyme Glucuronidase. Ces caractéristiques distinctes permettent de rechercher et d'isoler les souches d'*E. coli* dans l'environnement et l'alimentation (C., 2016).

Tableau 1 : Caractères biochimiques d'E. coli (G., 2007)

Résultats	Tests
+	Glucose
+	Lactose
-	Hydrogène Sulfuré
-	Voges-Proskauer
-	Uréase
+	Indole
-	Citrate De Simmons
+	Orthonitrophenyl-β-D-Galactopyranoside
+	Citrate De Christensen
+/-	Arginine dihydrolase
-	Gélatinase
-	Malonate
-	Phényl-Alanine Désaminase
+	Lysine Décarboxylase
+	Ornithine Décarboxylase
-	Tryptophane Désaminase
+	Nitrate Réductase

2.3 Caractères moléculaires :

Du point de vue moléculaire l'identification d'*Escherichia coli* dans les échantillons est basée sur la détection de certains gènes de virulence qui sont caractéristiques des différentes souches ((Omar K & 71., 2014), (Nguyen TV, 2005), (Vilchez S, 2009)).

3. Les pathogènes intestinaux :

Le vétérinaire danois Carl Oluf Jensen se basant sur le concept de “pathotype” affirme que la bactérie *E. coli* est composée de groupes hétérogènes composés de souches provoquant des pathologies et de souches tout à fait inoffensives (J., 2003) .Les pathogènes intestinaux de *E.coli* appartiennent pour la plupart aux groupes phylogénétiques A/B1/E (Clermont, 2011.)et sont reconnus comme des agents responsables de syndrome diarrhéique d'origine alimentaire ou hydrique. Six principaux pathovars classifiés en fonction des signes cliniques et des facteurs de pathogénicité exprimés sont inclus dans ce groupe.

3.1. Les Escherichia coli enterotoxigenes (ETEC):

Les ETEC sont responsables de désordres intestinaux chez l’humain ((Nataro, 1998.) et d’autres espèces animales, en particulier le veau et le mouton (diarrhée néonatale), le porc (diarrhée néonatale et postsevrage, maladie de l’oedème en combinaison avec des STEC), et le chien (diarrhée). Les ETEC sont à l’origine d’épisodes de diarrhée aqueuse, modérée à sévère, peu fébriles, associés à des nausées et à des crampes abdominales. Dans les pays dits en voie de développement, les ETEC sont la cause majeure de cas de diarrhée aqueuse aiguë chez les enfants de moins de 5 ans et de « diarrhée du voyageur » ou« *turista* » (Kaper, Pathogenic Escherichia coli, 2004), (Nataro J. P., 1998). Des souches ETEC sont également importantes dans les fermes, les porcelets en post-sevrage sont fortement susceptibles à l'infection (Nataro J. P., 1998.). Les ETEC appartiennent aux sérogroupes : O6, O8, O11, O15, O20, O25, O27, O78, O128, O148, O149,O159 et O173 chez l'homme et chez les ruminants.

3.2. Les Escherichia coli enteroinvasives (EIEC):

Les EIEC et les shigelles sont souvent classés dans le même groupe de pathovar avec des caractères biochimiques, antigéniques, génétiques et fonctionnels très proches, et possèdent une stratégie d’infection similaire. Les EIEC sont responsables de syndrome dysentérique caractérisé par une forte fièvre, des crampes abdominales et des nausées,

accompagnés d'une diarrhée aqueuse évoluant rapidement vers une dysenterie (diarrhée contenant du sang et du mucus) (V, 2018). Cependant, *Shigella* est une bactérie à localisation intra-cellulaire qui n'a ni flagelles ni des facteurs d'adhésion. Elle est fortement infectieuse et est responsable de la dysenterie bacillaire avec diarrhée sanglante (Kaper, Pathogenic Escherichia coli., 2004.). Les EIEC possèdent divers facteurs de virulence, dont des invasines et des entérotoxines (Nataro J. P., 1998.). Le pouvoir invasif des EIEC peut être démontré par un test de Serény positif, i.e. l'induction d'une kératoconjunctivite chez le cochon d'Inde (Zhu, 1996), ou *in vitro* sur cellules HeLa (Nataro J. P., 1998.). Les souches d'EIEC appartiennent aux sérogroupes : O28ac, O29, O112ac, O124, O136, O143, O144, O152, O159, O164 et O167 (Stenutz, 2006).

3.3. Les Escherichia coli à adhésion diffuse (DAEC):

Les DAEC représentent la classe de *E. coli* la moins bien connue parmi celles amenant des désordres intestinaux chez l'humain (Giron, 1991); Les DAEC sont un groupe hétérogène qui produit une adhérence diffuse sur cellules Hela et HEP-2. Cette adhérence est favorisée par des protéines codées par une famille d'opérons, qui incluent à la fois les adhésines fimbriales (Dr. et F1845) et les adhésines afimbriales réunies sous le nom de Afa-Dr (Servin, 2005). Les isolats de DAEC qui expriment Afa-Dr en colonisant l'intestin grêle, engendrent des cas de diarrhée chez les enfants entre 5 et 18 mois d'âge. Par ailleurs, ils peuvent coloniser le tractus urinaire et être à l'origine d'infection urinaire récurrente chez l'adulte (Servin, 2005).

3.4. Les Escherichia coli entero-agrégatives (EaggEC, ou EAEC)

Considérés comme des pathogènes émergents, les EAEC sont la deuxième cause de diarrhée des voyageurs après ETEC dans les pays développés et en voie de développement. Les EAEC sont également reconnues comme une cause de diarrhée endémique et épidémique dans le monde entier. La diarrhée provoquée par les EAEC est souvent aqueuse, mais elle peut être accompagnée de mucus ou de sang. Les EAEC sont responsables des diarrhées du nourrisson et des jeunes enfants dans les pays en développement. Ces souches sont associées à des cas

de diarrhée persistante (V, 2018). Les sérogroupes qui ont été identifiés dans le groupe des EAEC sont: O3, O7, O15, O44, O77, O86, O104, O111, O126 et O127 (Milnes, 2009), (Stenutz R. A., 2006).

La colonisation des EAEC peuvent se produire dans la muqueuse de l'intestin grêle et du gros intestin et évoluer vers une inflammation progressive dans le côlon (Nataro J. P., 1998.). Les souches EAEC se caractérisent par un type d'adhésion agrégative en " briques empilées " à l'origine de nécrose au pôle apical des villosités avec oedème inflammatoire et hémorragique de la sous muqueuse. Ce modèle d'adhésion est codé par des gènes localisés sur une famille de plasmides de virulence appelés les plasmides de pAA. Ces plasmides de 100 kb codent les gènes nécessaires pour la biogénèse des fimbriae d'adhérence agrégative (AAFs) notamment les adhésines de la famille Dr et favorisent l'adhérence d'EAEC à la muqueuse intestinale. Quatre variants d'AAFs (AAF/I, AAF/II, AAF/III et Hda) ont été identifiés (Stenutz R. A., 2006). Les récepteurs pour AAFs sont inconnus, mais les données récentes prouvent qu'AAF/II peut lier la fibronectine (Milnes, 2009). Deux autres toxines, ShET1 (« *Shigella* enterotoxin 1 ») et EAST1 (« *E. coli* ST1 »), peuvent être trouvées dans d'autres isolats EAEC, mais leur rôle dans la pathogénie n'est pas complètement compris. L'expression de la plupart de ces facteurs de virulence semble être sous la dépendance de l'activateur de transcription AggR. De plus, les enquêtes épidémiologiques relatives aux souches EAEC montrent que la présence du régulon AggR chez les souches incriminées est associée à l'apparition de cas de diarrhée. Aussi, le terme d'EAEC « typique » a été proposé récemment pour désigner les EAEC possédant le gène *aggR* et quelques gènes régulés par celui-ci par opposition aux souches d'EAEC « atypiques » (Johnson, 2008).

3.5. Les *Escherichia coli* entero-pathogènes (EPEC)

Les EPEC sont responsables de cas de diarrhée sévère chez les enfants dans les pays en voie de développement (Croxen, 2010.). Par contre, dans les pays industrialisés, l'incidence des infections dues aux EPEC a fortement diminué. Mais des cas sporadiques sont encore recensés dans les communautés d'enfants. Les sérogroupes des souches EPEC les plus fréquemment associés à la diarrhée chez l'homme sont O111, O128, O86, O55, O125, O127 (Campos, 2004.) et chez les bovins, le séro groupe O26 (Mainil, 2000). En plus de l'homme et

des bovins, les souches EPEC sont retrouvées chez d'autres animaux comme le chien, le chat, le lapin, le porcelet, ou bien encore chez la chèvre et le mouton (Krause, 2005.). Les EPEC font parties du groupe des pathogènes entraînant des lésions de type attachement/effacement (A/E) des cellules de l'épithélium intestinal. Dans ce groupe on retrouve aussi les EHEC, les RDEC (« rabbit diarrhoeagenic *E. coli* »), *Citrobacter redentium* pathogène chez la souris et *Escherichia albertii* identifié récemment et autrefois connu comme *Hafnia alvei* (Croxen, 2010.).

3.6. Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC):

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) sont des bactéries pathogènes et zoonotiques qui se retrouvent dans l'eau et parfois dans les aliments. Elles sont responsables de diarrhée, de colite hémorragique et de syndrome urémique hémolytique chez l'homme à la suite de consommation de viande pas assez cuite dans des restaurants « fast food » mais peu ou pas de maladie perceptible chez les animaux considérés comme des réservoirs (Gillespie S, 2006.). Le sérotype O157:H7 est le plus fréquent pour les souches EHEC chez l'homme, mais d'autres sérotypes comme les O26:H11, O26:H-, O111:H-, O103:H2, O145:H- sont de plus en plus fréquents. A ce jour plusieurs dizaines de sérotypes ont été reconnus et publiés (Nataro J. P., 1998.), (Tozzi, 1988). Ils sont regroupés sous le nom générique des souches EHEC non-O157 : O4, O5, O16, O26, O46, O48, O55, O91, O98, O103, O111ab, O113, O117, O118, O119, O125, O126, O128, O145, O172 O177, O178, O179, O180 et O181. En outre, plusieurs des sérogroupes d'EHEC sont également identifiés comme EPEC. Les sérogroupes O5, O26, O111 et O118 associés aux souches EHEC ont été isolés chez les veaux, (Mainil J. ..., 1999)- (Mainil J. G., 2005), (Nataro J. P., 1998.)). EHEC O157 a été également isolé dans des cas sporadiques de colite hémorragique (Riley, 1983)). L'identification de la production de Shigatoxines (Stxs) à partir des souches EHEC O157 a mené à la découverte de leur rôle dans le développement de syndrome hémolytique et urémique (SHU) et une triade pathologique se composant d'une anémie microangiopathique hémolytique, d'une thrombocytopénie et d'une insuffisance rénale aiguë ((Johnson W. M., 1983.)

3.7. Les « Shiga-toxin producing enteroaggregative E. coli » (STEAEC)

Les STEAEC sont des *Escherichia coli* producteur de shigatoxine qui ont des facteurs de virulence caractéristiques des STEC et des EAEC. Ce pathovar appartenant au sérotype O104:H4, au groupe phylogénétique B1 et à la séquence type ST678, a été identifié récemment lors de l'épidémie d'infections à EHEC en 2011 en Allemagne et en France. La souche épidémique avait la particularité d'avoir plusieurs facteurs de virulence et d'être résistante à un large éventail d'antibiotiques. De très rares rapports font état du sérotype O104:H4 chez les humains. Ce sérotype n'a jamais été détecté chez des animaux ou dans des aliments. Plusieurs groupes de recherche ont obtenu la séquence complète du génome à partir des isolats de la souche épidémique allemande ainsi que les séquences du génome du sérotype O104:H4 souches EAEC d'Afrique. Ces résultats suggèrent que le transfert génétique horizontal a permis l'émergence de la souche STEAEC O104:H4. Les principaux sérogroupes impliqués dans les cas d'infections à STEC sont O26, O55, O111ab, O113, O117 et O157 chez l'humain (Nataro J. P., 1998.), O5, O8, O20, O26, O103, O111, O118 et O145 dans les cas de dysenterie chez le bovin et le mouton.

4. Les pathogènes extraintestinaux :

Les souches ExPEC se caractérisent par leur pouvoir de coloniser d'autres systèmes en dehors du système gastro-intestinal (Russo, 2000) et elles représentent un risque sanitaire plus élevé que celui des *E. coli* pathogènes intestinale; sont responsables d'infections extraintestinales dont la porte d'entrée se situe soit au niveau de l'intestin, soit au niveau d'autres sites divers (plaies, appareil respiratoire, etc.). Ce groupe comprend les *E. coli* uropathogènes (UPEC) responsables d'infections urinaires (cystites, pyélonéphrites), les *E. coli* associées à des méningites et des septicémies (neonatal meningitis *E. coli* ou NMEC) ainsi que le pathovar aviaire « *Avian Pathogenic E. coli* » (APEC), responsables de cas de septicémie, de cellulite et d'aérosacculite chez la volaille.

Les UPEC sont les bactéries les plus impliquées dans les infections du tractus urinaire (ITU) (70% des cas). Les infections urinaires sont très fréquentes, environ 150 millions de cas par an dans le monde (Stamm, 2001) dont près de 2 millions en France, représentant ainsi une préoccupation de Santé Publique (Tostain J., 1999).

A côté des UPEC, les NMEC sont la première cause de méningites (Wang, 2004.). Le processus infectieux se fait en plusieurs étapes, de la colonisation et l'invasion des muqueuses jusqu'à la traversée de la barrière hémato-méningée. Les NMEC sont protégées du système immunitaire de l'hôte par une capsule de type K1. L'invasion des macrophages conduit à une niche de réplication pour les bactéries qui pourront par la suite traverser la barrière hémato-méningée afin d'atteindre le système nerveux central. Ainsi, le pouvoir pathogène des ExPEC est caractérisé par de nombreux facteurs de virulence principalement codés par des gènes se trouvant dans des « pathogenicity islands » (PAIs). Ces facteurs de virulence codent des systèmes de captation du fer, des adhésines, les antigènes de capsules et des toxines, Les gènes de virulence des ExPEC sont fréquemment retrouvés sur des îlots de pathogénicité.

5. La résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance bactérienne se définit comme la capacité de continuer à croître ou à survivre en présence de l'antibiotique. Les conditions d'activité d'un antibiotique sont de posséder une cible spécifique, de demeurer sous forme active, d'accéder à la cible et d'interagir efficacement avec elle en la désactivant. Pour chaque nouvelle classe d'antibiotiques développée et commercialisée, des souches bactériennes résistantes ont émergé. Ce phénomène a été amplifié par l'utilisation abusive des antibiotiques depuis un demi-siècle. En effet, Fleming lançait déjà un avertissement face à une utilisation excessive de la pénicilline dès 1945 lors de son discours d'acceptation du prix Nobel. La notion de « breakpoint » est utilisée pour classer les bactéries comme sensibles et résistantes afin de guider la thérapie (Leclercq, 2013). Selon l'EFSA, l'antibiorésistance est le principal effet indésirable de l'usage des antibiotiques chez les humains et les animaux (EFSA, 2014)

Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise. La résistance naturelle est programmée sur le génome et constante à l'intérieur du taxon ; elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce. Les résistances acquises sont quant à elles consécutives à des modifications de l'équipement génétique.

5.1 Resistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est essentiellement due à la présence de gènes chromosomiques ; elle est donc commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle peut être due à des particularités structurales s'opposant à l'action de l'antibiotique sur sa cible comme la présence d'une membrane externe chez les bactéries à Gram négatif les rendant naturellement résistantes aux antibiotiques de poids moléculaire élevé comme les glycopeptides. Elle peut être aussi due à des particularités métaboliques spécifiques : le bacille de la tuberculose par exemple n'est sensible qu'à un nombre restreint d'antibiotiques en raison de son métabolisme original. La résistance naturelle peut enfin être médiée par l'expression constitutive ou induite d'une enzyme d'inactivation ou par la mise en oeuvre d'un processus d'échappement vis à vis de l'antibiotique (Hollenbeck, 2012). Dans tous les cas, la résistance naturelle fait partie des caractères normaux de l'espèce ; elle détermine le niveau de sensibilité « basal » des bactéries et définit le phénotype sauvage d'une espèce. C'est la résistance de classe. Elle est constitutive et touche toute une famille d'antibiotiques.

5.2 Resistance acquise

Ce terme est utilisé pour désigner le résultat d'un processus permettant à des bactéries d'une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques. L'acquisition de ces résistances est déterminée par des modifications génétiques consécutives à des mutations ponctuelles ou à l'acquisition « de novo » de gènes de résistance exogènes lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce (Wright G.D., 2005). La capacité de multiplication très rapide des bactéries favorise la sélection d'évènements génétiques favorables et la possibilité d'échange d'information même entre espèces lointaines leur conférant un très grand pouvoir d'adaptation aux contraintes du milieu. L'évolution des mécanismes de résistance aux antibiotiques, et notamment aux β -lactamines illustre parfaitement ce phénomène.

- Mutations sur des gènes chromosomiques, spontanées ou induites :

■ Mutations spontanées : c'est un changement spontané, rare et héréditaire, qui va affecter la séquence nucléotidique du génome bactérien ;

■ Mutations induites : adaptation d'une bactérie à des conditions défavorables à sa croissance (notamment présence d'antibiotiques) ;

- Acquisition de gènes de résistance provenant d'autres souches :

■ Par conjugaison : un gène est transféré d'une bactérie à une autre via des plasmides ou des transposons (transfert inter-espèce, souvent à partir de bactéries non pathogènes de l'environnement) ;

■ Par transduction : un gène est transféré d'une bactérie à une autre via un bactériophage (transfert intra-espèce) ;

■ Par transformation : transfert d'ADN nu entre deux bactéries (transfert intra- ou inter-espèce).

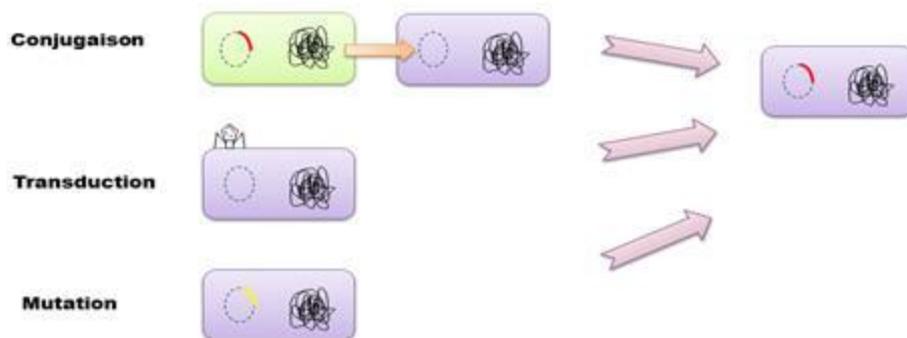


Figure 1: les différents mécanismes d'acquisition de résistance chez les bactéries (d'après c. bouvier-slekovec)

6. L'antibiotique :

Le terme « antibiotique » fut proposé en 1941 par Waksman pour désigner toute substance chimique produite par un micro-organisme et capable d'inhiber le développement ou de détruire d'autres micro-organismes. Par la suite, cette notion s'est étendue aux substances semi-synthétiques ou même synthétiques ayant la même fonction (Nauciel et Vildé: Nauciel, 2005). Les antibiotiques proviennent de microorganismes présents naturellement dans le sol, ce qui leur confère un rôle écologique d'inhibition de la croissance de compétiteurs. Ils présentent un effet bactéricide (élimination des bactéries) ou bactériostatique (limitation de leur croissance). La plupart des antibiotiques sont des produits naturels, élaborés à l'aide d'une espèce de bactéries ou champignons (Martínez, 2008).

Les antibiotiques sont classés sur la base de leur structure chimique qui conditionne leurs principales propriétés bactériologiques (mode d'action, mécanisme de résistance, spectre), pharmacologiques (mode d'admission, diffusion, élimination) et toxicologiques (effets indésirables et contre-indications) (Bosgiraud, 2003). Les principales familles d'antibiotiques présentant un intérêt thérapeutique contre les entérobactéries, y compris *E. coli*, sont les β -lactamines, les aminosides et les quinolones.

6.1. Mécanisme d'action des antibiotique

La résistance bactérienne aux antibiotiques possède des supports génétiques et des mécanismes biochimiques.

6.1.1 Le support génétique de la résistance :

Le potentiel génétique d'une bactérie est constitué du chromosome et d'un ou de plusieurs génophores facultatifs et extra-chromosomiques, les plasmides. Des gènes sont également portés par des éléments génétiques transposables et par des intégrons. Une bactérie peut ainsi acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extrachromosomique (Clermont O, 2013).

6.1.2 La résistance chromosomique : (Clermont O B. S.)

Elle résulte d'une mutation. C'est un phénomène rare, dû au hasard, d'une fréquence de l'ordre de 10^{-5} . Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique ; mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes (ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique). C'est un phénomène indépendant : l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques. La probabilité de deux mutations simultanées est donc très faible (de l'ordre de 10^{-10}). Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques. Elle est transmissible ; et a donc un caractère héréditaire (transmission sur un mode vertical de bactérie-mère à bactéries-filles). Toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique et une bactérie mutée est souvent contre-sélectionnée en l'absence d'antibiotique par un phénomène de dilution.

6.1.3 La résistance extra chromosomique : les plasmids

Deux faits expliquent l'importance de la résistance plasmidique :

- la résistance plasmidique est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie. Les bactéries porteuses de plasmides sont normales alors que les bactéries résistantes par mutation sont souvent fragilisées. Aussi, les bactéries porteuses de plasmides ne sont pas ou peu contre-sélectionnées en l'absence d'antibiotique.

- de nombreux plasmides de résistance sont conjugatifs ou mobilisables ce qui permet un transfert horizontal (Buard, 2013). Ces transferts sont à l'origine d'une dissémination très importante de la résistance au sein des populations bactériennes ce qui fait qualifier la résistance plasmidique de "contagieuse ou épidémique". Les plasmides de résistance sont susceptibles d'évoluer par acquisition ou pertes successives de déterminants de résistance portés par des éléments génétiques transposables. Les éléments génétiques transposables permettent la dissémination de gènes entre des bactéries phylogéniquement éloignées en permettant l'implantation d'un gène là où celle d'un plasmide échoue. Comme pour la résistance chromosomique, les gènes de la résistance extrachromosomique ne sont pas induits par l'utilisation des antibiotiques qui se contentent de sélectionner les bactéries

porteuses de tels gènes. Il est important de noter que la résistance extra souvent une multirésistance, l'utilisation d'un seul antibiotique va sélectionner des bactéries multirésistantes qui ne sont pas contre d'antibiotique

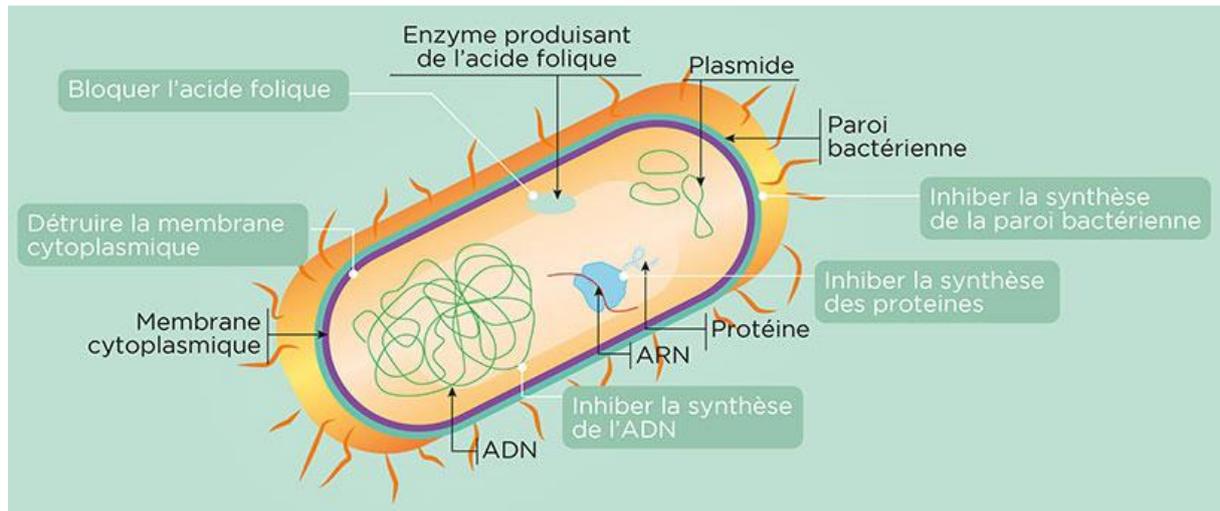


Figure 2 : Différents modes d'action des antibiotiques ((Koulikoff, 2018)

6.2 β -lactamines:

Les β -lactamines demeurent à l'heure actuelle les molécules les plus utilisées dans le traitement des infections dues aux entérobactéries. Cette large utilisation est principalement liée à leur faible toxicité, à leur pouvoir bactéricide et à l'extrême diversité de leurs structures (Gibold, 2012). Il peut s'agir d'une diminution d'affinité de la cible, d'une diminution de la perméabilité de la membrane, de l'expression d'une pompe d'efflux actif ou de la production d'enzyme de type lactamase

6.2.1 Structure et classification:

La base commune à toutes les β -lactamines est le noyau azétidinone, qui contient la structure carbonyle lactame indispensable pour l'activité de ces molécules ((Bryskier, 1999)). À partir de cette structure, cinq groupes ont été développés par adjonction d'un cycle latéral: les pénames, les céphèmes, les pénèmes, les monobactames et les inhibiteurs de β -lactamases (Cavallo, 2004)

6.2.2 Inhibiteurs de β -lactamases :

Il s'agit de l'acide clavulanique (clavame ou oxapéname), sulbactam et tazobactam (pénicillines sulfones). Ce sont des β -lactamines à faible activité antibactérienne intrinsèque. Associés à une β -lactamine, ils en restaurent l'activité antibactérienne qu'elle n'avait plus du fait de son hydrolyse par les β -lactamases (Cavallo, 2004). En effet, l'acide clavulanique est utilisé avec l'amoxicilline dans l'Augmentin et la ticarcilline dans le Claventin, alors que le tazobactam est utilisé avec la pipéracilline dans la Tazocilline. Le spectre d'inhibition de ces molécules est limité aux pénicillinases (Ruppé, 2010).

6.2.3 Mécanisme d'action :

Les β -lactamines interfèrent avec les étapes finales de la synthèse du peptidoglycane, polymère majeur de la paroi bactérienne, par inactivation des enzymes appelées protéines liant les pénicillines ou PLPs (Cavallo, 2004) Il s'agit d'enzymes d'activité variable de type transpeptidase, transglycosylase ou carboxypeptidase, localisées sur la face interne de la membrane cytoplasmique (Philippon, 2008). Les β -lactamines présentent une analogie structurale entre le noyau β -lactame et le dipeptide terminal D-alanyl-D-alanine, du pentapeptide constitutif du peptidoglycane, qui constitue le substrat naturel des PLPs. La fixation du cycle β -lactame sur le site actif des PLPs aboutit à la formation d'un complexe acylenzyme covalent provoquant l'inactivation de ces enzymes. Cette liaison ainsi formée a deux conséquences : elle empêche la synthèse du peptidoglycane en inhibant la transglycosylation et la transpeptidation (effet bactériostatique) (Tankovic & .., 2000) et elle entraîne une activation endogène des autolysines bactériennes (effet bactéricide) .

6.2.4 Cas particulier de BLSE :

6.2.4.1 Définition des BLSE : Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes produites par certaines bactéries les rendant résistantes à de nombreux antibiotiques incluant les C3G et aztréonam. Le gène codant est présent au niveau du chromosome de bactéries particulières et transféré à d'autres populations bactériennes par l'intermédiaire de plasmides. Nombreuses Entérobactéries productrices de BLSE (EBBLSE) sont connues aujourd'hui, dont *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*. Les premières infections à EB-

BLSE sont rapportées chez *K. Pneumonia* en Allemagne en 1983 et ont diffusé à toute l'Europe ainsi qu'en Amérique. En Asie, les premières infections sont été notées en Chine en 1988 (Ghafourian S, 2014)

6.2.4.2 Types de BLSE: Le type de BLSE que l'on trouve généralement est Temoneira (TEM). Environ 90% des *E. coli*, qui sont résistants à l'ampicilline, sont survenus en raison de la production de TEM-1. Ce type a la capacité d'hydrolyser la pénicilline et de céphalosporine première génération. Bien qu'il se trouve habituellement dans *E. coli* et *K. pneumonia*, la fréquence de la β -lactamase de type TEM augmente également chez d'autres bactéries à Gram négatif. Jusqu'à récemment, il y a 140 types TEM connus. Le second type est la variable sulfhydrile (SHV) dont 68% de son acide aminé est similaire au type TEM. Le plus souvent trouvé chez *K. pneumonia* est SHV-1 qui provoque une résistance à la pénicilline, à la tigécycline et à la pipéracilline. Il y a 60 types SHV connus jusqu'ici en Europe, en Amérique et dans le monde entier. Le type TEM-1 et SHV-1 ont la capacité d'inactiver l'ampicilline, et certains d'entre eux peuvent subir d'autres mutations qui conduiront à une expansion de l'activité β lactamase (Sibhghatulla, 2015). Il y a plus de 80 types de céphotaxime connus jusqu'à présent. L'enzyme CTXM ne se limite pas à l'infection nosocomiale mais à la capacité de se propager dans la communauté (habituellement par *E. coli*) et ceci est devenu un problème de santé publique.

ETUDE EXPERIMENTALE

1. Objectifs de l'étude :

L'objectif de notre étude consiste à l'isolement, l'identification des souches d'Escherichia coli à partir des matières fécales de bovins et mettre en évidence l'antibiorésistance, des souches d'E coli isolées, dans une région précise vis-à-vis de 11 molécules d'antibiotiques, parmi les plus utilisées en médecines vétérinaires.

2. Cadre de l'étude :

Notre étude a été réalisée dans la région de freha commune située au centre de la wilaya de Tizi Ouzou en Algérie délimitée :

- au nord, par la commune d'Aghribs ;
- à l'est, par la commune d'Azazga ;
- au sud, par les communes de Mekla et de Tizi Rached ;
- à l'ouest, par les communes de Tizi Ouzou et Ouaguenoun ;
- au nord-ouest, par la commune de Timizart.

3. Matériel et Méthodes :

Tout le matériel nécessaire au bon déroulement de ce travail était disponible au niveau du Laboratoire des Biotechnologies liées à la Reproduction Animale (LBRA) de l'Institut Science Vétérinaires de Blida 1.

Notre étude a été menée durant une période de 7 mois de Avril 2019 jusqu'à Octobre 2019 et s'est déroulée en deux étapes :

3.1. Première Etape :

Sur le terrain :

- L'échantillonnage :

Notre étude a porté sur la commune de freha.

Les prélèvements ont été effectués, chez les éleveurs qui étaient joignables au moment de la récolte et qui ont bien voulu participer à ce travail, sur les animaux présent à l'intérieure de l'étable. Au minimum 50g de matière fécale directement du rectum était prélevé par animal dans un sac à prélèvement stérile

3.2. Deuxième étape : Au laboratoire :

Les prélèvements sont acheminés sous froid au Laboratoire de LBRA de l'Institut Science Vétérinaires de Blida1.

Au niveau de ce dernier nous avons effectué l'isolement et l'identification des E Coli ainsi que l'étude de leurs résistances aux antibiotiques.

3.2.1. Protocole :

Les prélèvements de matières fécales qui seront analysés après un délai de 24h à 48h après leur récolte. Durant cette période, ils sont conservés sous froid à 4°C.

3.2.2. Méthode bactériologique

3.2.2.1. Enrichissement dans un milieu non sélectif liquide :

Cette phase correspond à la préparation de la suspension en utilisant de l'eau péptonée tamponée qui contient essentiellement des peptones tryptiques source d'azote destinée à revivifier les cellules bactériennes.

En milieu aseptisé et sous bec Bunsen, nous procédons à la préparation de la solution en ajoutant à 25g de matières fécales 250 ml (ou 12.5g dans 125ml) d'eau péptonée tamponée de manière à obtenir une dilution de 1/10.

La solution ainsi obtenue est incubée durant 18-20h dans une étuve réglée à 37°C.

3.2.2.2. Préparation et ensemencement du milieu de culture

a- Préparation de milieu : Milieu MacConkey :

Le milieu de Mac Conkey contient deux inhibiteurs de la flore Gram positive, les sels biliaires et le cristal violet qui permettent, en plus des bactéries à Gram positives l'inhibition du développement en nappe des Proteus.

Les E coli apparaissent roses sur ce milieu.

La préparation de milieu se fait comme suite :

Mettre en suspension 50,0 g de milieu déshydraté (Conda^R) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.

- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.

- Répartir en tubes ou en flacons.

- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Avant de couler le milieu dans les boîtes de Pétri.



Figure 3 : Boite pétri avec gélose MacConkey (photo personnelle).

b-Ensemencement :

Après 24h d'incubation, Nous avons prélevé à partir de chaque tube de pré enrichissement, une goutte, à l'aide d'une anse de platine stérilisée à la flamme, que l'on ensemence sur gélose.

Les différentes boîtes ensemencées sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures.

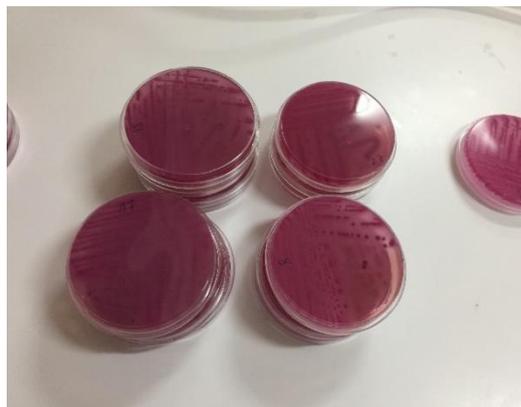


Figure 4: Boite pétri avec gélose MacConkey avec apparitions des colonies rose après incubation (photos personnelles).

3.2.2.3. Purification :

Les colonies caractéristiques d'*E Coli.* sont prélevées de chaque boîte du milieu sélectif MacConkey puis repiquées.

3.2.2.4. Identification :

Chaque culture pure a fait l'objet d'une observation de la mobilité selon la méthode (état frais), d'une coloration de Gram, et, par la suite une identification Biochimique.

a) Galerie biochimique

Les caractéristiques biochimiques nous permettent de distinguer les bactéries de genres et d'espèces différentes en détectant les différences entre leurs métabolismes.

Ces caractéristiques biochimiques sont étudiées au niveau du laboratoire par des tests biochimiques différents, chaque test biochimique fournit des informations qui nous permettent de limiter le champ de recherche (caractère de famille, de genre, d'espèce)

Et soumise à une mini galerie (TSI, oxydase, urée indole, manitol mobilité) biochimiques d'orientation, puis soumise à une confirmation avec une galerie miniaturisée API 20^E.

Technique :

- Préparation de la suspension bactérienne à l'aide d'une anse de platine bien stérile, une colonie isolée est prélevée puis déposée dans un tube à essais contenant de l'eau distillée ; cette suspension est homogénéisée.

Les différents tests pratiqués avec la galerie biochimie classique sont :

- Test d'urée-indole.
- Test TSI.
- Test ONPG.
- manitol mobilité.

b) Galerie API 20E

La galerie API 20E est un système standardisé pour l'identification des bactéries selon les caractères biochimiques. Elle comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

1. Préparation de la galerie

Répartir environ 5ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Inscrire le numéro du prélèvement sur la languette latérale de la boîte. Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

2. Préparation de l'inoculum

Une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé est prélevée à l'aide d'une pipette, les cellules jeunes (18 à 24 heures) sont préférentiellement utilisées. La suspension bactérienne est soigneusement homogénéisée dans le milieu. Elle doit être utilisée extemporanément.

3. Inoculation de la galerie

Les tubes des tests (et non les cupules) sont remplis avec la suspension précédente pour éviter la formation de bulles d'air au fond des tubes. La pointe de la pipette est posée sur le côté de la cupule en inclinant légèrement la boîte chargée de la suspension bactérienne vers l'avant. Les tubes et cupules des tests qui portent un cadre tels que GEL ont été remplis avec la suspension et les cupules des tests soulignés tels que ADH et URE ont été remplis aussi avec la suspension sur laquelle a été ajoutée une couche d'huile de paraffine (anaérobiose). Il faut remplir la boîte d'incubation des tubes des tests avec un peu d'eau pour éviter la dessiccation lors de l'incubation à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, la galerie sera lue et les résultats comparés au tableau de lecture. Sur la fiche de résultats sont notées toutes les réactions spontanées ou révélées par l'addition des réactifs.

4. Lecture de la galerie

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture. Trois tests nécessitent l'addition de réactifs : Test Tryptophane Désaminase(TDA) : on ajoute une goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Test Indole(IND) : on ajoute une goutte de réactif JAMES. Un anneau rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Test Voges-Proskauer (VP) : on ajoute une goutte de réactif VP 1 et VP 2 puis on attend au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

5. Interprétation de la galerie

L'identification est obtenue à partir du profil numérique : Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1 ; 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 21 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres.



Figure : 5 galerie API 20E (Photo personnelle).

c) Antibiogramme

a. Principe

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante.

1. Milieu

La gélose de Mueller Hinton est un milieu de base qui permet la réalisation de l'antibiogramme standard. Elle est coulée en boîtes de Pétri. La surface de la gélose est séchée pendant 15 minutes à 37°C.

2. Inoculum

L'inoculum est préparé à l'aide de 3 à 5 colonies isolées et prélevées puis mises dans un tube qui contient du bouillon nutritif. Ce dernier est étuvé pendant 30 min puis une goutte d'inoculum est homogénéisée dans un tube contenant de l'eau physiologique.

3. Ensemencement

L'ensemencement se fait :

- Par écouvillonnage: le milieu est ensemencé par stries très serrées en 3 passages en faisant pivoter boîte de 60°.

4. Application des disques d'antibiotiques

Les disques d'antibiotiques sont déposés sur la gélose avec une pince métallique stérile. Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90mm de diamètre. Les boîtes sont incubées 24 h à 37°C.

5. Lecture

La lecture doit se faire dans les délais recommandés : 18 à 24 heures. La zone d'inhibition circulaire est mesurée par le diamètre en millimètres selon divers moyens (règle ou pied à coulisse).

La lecture des diamètres des zones d'inhibition a été faite selon la table de lecture de la 3ème édition de « Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire ».

La bactérie est dite sensible à l'antibiotique quand la CMI est inférieure à la CCI, sa croissance est inhibée par la concentration sérique obtenue au cours d'un traitement à dose habituelle par voie générale. La bactérie est dite résistante à l'antibiotique quand la CMI est supérieure à la CCS. La concentration sérique ne pouvant pas atteindre la CMI dans les conditions du traitement, sauf à utiliser des posologies toxiques La bactérie est dite intermédiaire à l'antibiotique quand la CMI est comprise entre les deux concentrations critiques. En pratique, cela correspond à une situation où la concentration est tantôt suffisante pour tuer les bactéries, tantôt insuffisante, dans ce cas le succès thérapeutique est imprévisible.

b. choix des antibiotiques :

Au total 11 antibiotiques ont été testés, parmi les plus utilisés en pratique, et selon les listes d'antibiotiques recommandées pour la surveillance des pathogènes vétérinaires, ce sont : cefotaxime, cefoxitine, ceftazidime, gentamicine, sulfamethoxazole-triméthoprime, tétracycline, amoxicilline + acide clavulanique, ampicilline, enrofloxacin, chloramphénicol, streptomycine.

4. Résultats :

Au total, 50 prélèvements ont été réalisés à partir de 05 élevages visités. 50 ont présenté une culture positive envers *Escherichia coli*.

4.1 Distribution des prélèvements en fonction de l'âge :

Les animaux prélevés sont choisis au hasard parmi les animaux présents à l'intérieure de l'étable au moment de notre visite.

Tableau 2 : Nombre de prélèvements positifs par tranche d'âge.

Age	≤ 6 mois	6 mois – 24 mois	> 24 mois
Nombre	19	7	24

Les animaux ayant plus de 24 mois sont les plus représentés avec un nombre de 24 , suivi de la tranche de moins de 6 mois avec un nombre de 19.

4.2 Distribution des prélèvements en fonction du sexe :

Tableau 3 : Nombre de prélèvements selon le sexe.

Sexe	Femelle	Mâle
Nombre	31	19

les femelles sont largement prélevées par rapport aux mâles.

4.3. Examen bactériologique :

Tous les prélèvements (50) ont présenté une culture positive envers *Escherichia coli* ;

Les souches d'*Escherichia coli* sont isolées et identifiées grâce à leurs caractères morphologiques et biochimiques.

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



Figure 6 : Colonies d'*Escherichia coli* sur gélose MacConkey [photo personnelle]

L'identification microscopique montre des bacilles fins mobiles, dont la coloration de Gram est négative.

4.4. Résultats des antibiogrammes :

L'antibiogramme a été réalisé selon les normes de l'OMS. Les résultats de résistance de 50 souches, vis-à-vis de 10 antibiotiques est présentée dans le tableau suivant.

La lecture est faite selon Eucast breakpoints 2020 (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

Tableau 4 Résultats des antibiogrammes.

Antibiotiques	Résistance	Sensibilité
Ampicilline	36% (18)	64 % (32)
AMOXICILLINE/ ACIDE CLAVULANIQUE	28 % (14)	72% (36)
CEFOTAXIME	0	100% (50)
CEFTAZIDIME	0	100% (50)
CEFOXITINE	0	100% (50)
ENROFLOXACINE	4 % (2)	96% (48)
SULPHAMETHOXAZOLE/TRIMETHOPRIME	30 % (15)	70% (45)
TETRACYCLINE	40 % (20)	60% (30)
GENTAMYCINE	18% (9)	82% (41)
STREPTOMYCINE	32% (16)	68% (34)
CHLORAMPHENICOL	12% (6)	88% (44)

Les résultats montrent que les résistances des E coli vis-à-vis les 11 antibiotiques utilisés est différente.

Les antibiotiques pour lesquels des taux élevés de résistance sont observés, il s'agit de l'oxytétracycline (40 %), suivi de l'ampicilline (36%), streptomycine (32 %), sulfaméthoxazole+triméthoprim (30%) et amoxicilline + acide clavulanique (28%).

Les antibiotiques pour lesquels des taux faible de résistance sont observés, sont : gentamycine (12 %), chloramphénicol (12 %) et l'enrofloxacin (4 %).

Les antibiotiques pour lesquels des taux zéro de résistance, sont observés, sont :

La cefotaxime, ceftazidime, et cefoxitime.

Tableau 5 Fréquence des multi résistances d'E.coli.

Nombres d'antibiotiques	Souches résistantes
1	30 (60%)
2	26 (52%)
3	21 (42%)
4	12 (24%)
5	09 (18%)
6	06 (12%)
7	02 (4%)

Dans notre étude 20 (40%) souches ne présentent aucune résistance aux antibiotiques utilisés.

Plus de la moitié des souches, soit, 52 % sont résistantes à 2 antibiotiques, et près de la moitié sont résistantes à 3 antibiotiques (42 %). 24 % des souches sont résistantes à 4 antibiotiques, et 12 % des souches sont résistantes à 6 antibiotiques.

Discussion

Dans notre étude le pourcentage d'isolement des E.coli est de 100 %. E coli compose environ 80 % de notre flore intestinale aérobie. Les facteurs âge et sexe ont été pris en considération.

- Tétracyclines :

Dans nos résultats les tétracyclines étant les antibiotiques qui représentent le plus de résistances (40%), ceci concorde avec les résultats de HAMMOUDI (Hammoudi A., 2006), AGGAD (Aggad H., 2010) et BENAMEUR (Benameur Q., 2014) dans l'ouest Algérien qui avait trouvé respectivement, des résistances très élevées de (82%, 87% et 90.4% en aviaire).

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

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

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

- B-lactamines :

Le taux de résistance retrouvé dans notre étude envers l'Ampicilline et l'association amoxiciline+acide clavulanique est de l'ordre de (36%) et (28 %) respectivement, le taux de résistance correspond aux résultats enregistrés dans le programme français de la surveillance, de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale (39.9%) chez des veaux diarrhéiques. (Anne, 2006) .

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

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

Aucune résistance, (00%), n'a été enregistrée envers les céphalosporines, cefotaxime et ceftazidime. Le programme français de surveillance, de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animales a enregistré un taux de (11.3%) chez les veaux diarrhéique durant la période (2003-2004). (Anne, 2006)

- Quinolones et dérivés :

Le taux de résistance retrouvé dans notre étude envers enrofloxacin est bas dans notre étude (04 %), et donc concorde approximativement aux résultats de HAMMOUDI (6% en aviaire) (Hammoudi A., 2006), cependant AGGAD (Aggad H., 2010) a enregistré un taux moyen (45% en aviaire). Par ailleurs BENAMEUR (Benameur Q., 2014) et RAHIMI en Iran ont signalé un taux élevé de résistance à l'enrofloxacin qui est respectivement de (69.3% et 79.2% en aviaire).

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

- Gentamicine :

Le taux de résistance de gentamicine trouvé dans notre étude est de (18%), alors celui enregistré dans le programme français de surveillance, de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale est élevé (59,5%) chez les veaux atteints de pathologies digestives (diarrhée) durant l'année 2003-2004 (Anne, 2006).

- sulfaméthoxazole triméthoprime :

Le taux de résistance envers l'association sulfaméthoxazole- triméthoprime est de (30 %). Nos résultats sont proches de à ceux enregistrés dans le programme français de surveillance, de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale avec un taux moyen de (37.7%) pour l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole chez les veaux diarrhéiques. (Anne, 2006)

Multi- résistance :

Dans notre travail de recherche nous avons trouvé que 52 % des souches sont résistantes à au moins 2 antibiotiques, des études dans le même cadre ont été réalisées en Algérie. Nous citons Les travaux de MESSAI mentionné par Giovanardi et al. (Giovanardi.D., 2007). À l'est, HAMMOUDI (Hammoudi A., 2006) et AGGAD (Aggad H., 2010) à l'ouest et Abbachi (Abbachi.A, 2014) au centre de l'Algérie, ont retrouvés, respectivement que (100%, 93%, 72% en aviaire), et (100% des souches d'origine aviaire) sont résistantes à au moins 2 antibiotiques.

Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par MESSAI (Messai C., 2011).

Dans notre étude 42 % des souches sont résistantes à au moins à 3 antibiotiques, 24 % sont résistantes à 4 antibiotiques, 18 % sont résistantes à 5 antibiotiques, et 12 % sont résistantes à 6 antibiotiques.

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

Les plasmides de résistance aux antibiotiques, expliquent une grande partie des multi-résistances chez E. coli. Un nombre très élevé de plasmides codant pour des résistances

multiples sont rencontrés chez les entérobactéries, et l'émergence de nouvelles multi-résistances est favorisée par la mobilité des plasmides entre les différentes espèces d'entérobactéries. Les plasmides peuvent être regroupés en familles, dont les principales rencontrées chez des entérobactéries sont: repF, repl1, repN, repHI2, repA/C, repL/M (Carattoli, 2009).

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

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

Conclusion

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

Dans nos résultats l'antibiogramme a révélé que les tétracyclines représentent le taux le plus élevé de résistance (40 %). Et que 52 % des souches sont résistantes à au moins 2 antibiotiques. Ces phénomènes de multi-résistances peuvent conduire à des impasses thérapeutiques.

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

Références Bibliographiques

- Abbachi.A. (2014). *prévalence et profils d'antibiorésistances des souches E.coli isolées des poussins chair et oeufs embryonnés au couvoir de monsieur Bakhellal à taourga.*
- Aggad H., Ahmed Ammar., Hammoudi. (2010). *Antimicrobial resistance of Escherichia coli isolated from chichens with collibacillosis.*
- Anne. B.,(2006). *Programme français de surveillance, de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale.* Agence Française de sécurité sanitaire des aliments.
- Ayad.A., (2017). *Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez Escherichia coli au niveau des hôpitaux et de l'Ouest Algérien.* Université Abdou Bekr Belkaid-Tlemcen.
- Benameur Q., Geumourb. D., Hammoudi. A., (2014). *Antimicrobial Resistance of Escherichia coli isolated from chichens in west of Algeria.*
- Bosgiraud, C. (2003). *Microbiologie générale et santé.* . Paris .
- Bryskier, A. (1999). *Antibiotiques Agents Antibactériens et Antifongiques.* Paris Ellipses . 55.
- Buard, É. .. (2013). *Dynamiques des interactions espèces - espace : mise en relation des pratiques de déplacement des populations d'herbivores et de l'évolution de l'occupation du sol dans le parc de Hwange.*
- Carattoli, A. (2009). *Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae.*
- C., B. (2016). *Les Escherichia coli potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC [Internet]. Université de Bretagne Occidentale; .*
<http://archimer.ifremer.fr/doc/00312/42322/> .
- Campos, L. C. (2004.). *Diarrheagenic Escherichia coli categories among the traditional enteropathogenic E. coli O serogroups--a review. . Mem Inst Oswaldo Cruz 99. , 545-552.*
- Cavallo, J. F. (2004). *Bêta lactamines. EMC-Mal Infect 1: , 129–202.*
- Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Recherche et dénombrement d'Escherichia coli thermotolérants dans les échantillon Ec-BCIG 1.0, Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs du Québec. (2013). 17 .*
- Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Recherche et dénombrement d'Escherichia coli thermotolérants dans les échantillons solides ou semi-solides : méthode par filtration sur membrane utilisant le milieu de culture mFC-BCIG, M.*
- Clermont O, B. S. (s.d.). *Rapid and simple determination of the Escherichia coli phylogenetic group.. Appl Environ Microbiol. 2000;66(10): , 4555–4558.*
- Clermont O, C. J. (2013). *The Clermont Escherichia coli phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. . Environ Microbiol Rep. 2013; 5(1):. , 58-65.*
- Clermont, O. M. (2011.). *Animal and human pathogenic Escherichia coli strains.*

- Croxen, M. A. (2010.). Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity. . *Nat. Rev. Microbiol.* 8: , 26-38.
- EFSA, a. E. (2014). (*European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control*). *The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food.*
- Freter, R. H. (1993). Survival and implantation of Escherichia coli in the intestinal tract. . *Infect Immun* 39 , 686-703.
- G., O. (2007). *Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à gram négatif.* Dakar.
- Ghafourian S, S. N. (2014). Extended spectrum betalactamases: definition, classification and epidemiology. *Curr Iss Mol Biol.* 2014;17 , 11-22.
- Gibold, L. a. (2012). Intrinsic or acquired resistant to β -lactams in Enterobacteriaceae: How to identify them in clinical practice? . *Rev Francoph Lab* 445 , 47-58.
- Gillespie S, H. P. (2006.). *Principles and Practice of Clinical Bacteriology.* London: *John Wiley & Sons*; , 621 .
- Giovanardi. D., Campagnari. E et al., (2007). *Avian pathogenic Escherichia coli transmission from broiler breeders to their progeny in an integrated poultry production chain.*
- Giron, J. A.-V. (1991). Diffuse-adhering Escherichia coli (DAEC) as a putative cause of diarrhea in Mayan children in Mexico. *J Infect Dis* 163, 507–513 .
- Guiral E, B. J. (2011). Prevalence of Escherichia coli among samples collected from the genital tract in pregnant and nonpregnant women: relationship with virulence:Escherichia coli in pregnant and nonpregnant women. . *FEMS Microbiol Lett.* .
- Hammoudi A., Aggad. H. (2006). *Antibiorésistance of Escherichia coli strains isolated from chichen collibacillosis in western Algeria.*
- Hollenbeck, B. a. (2012). Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence* 3(5), 421-433. *Virulence* 3(5), , 421-433.
- Holt, J. G. (1994.). *Bergey's manual of determinative bacteriology.*
- J., M. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'Escherichia coli : I : les adhésines et facteurs de colonisation. *Ann Med Vet.* 147: .
- Johnson, J. R. (2008). Escherichia coli colonization patterns among human household members and pets, with attention to acute urinary tract infection. *J Infect Dis* 197: , 218-24.
- Johnson, W. M. (1983.). Cytotoxic Escherichia coli O157:H7 associated with haemorrhagic colitis in Canada. *Lancet* 1 , 76.
- K., K. (2017.). *Etude microbiologique de l'eau de boisson à Dioro : Relation entre la malnutrition et le portage d'Escherichia coli à travers la consommation d'eau de boisson.*

- Kaper, J. B. (2004.). Pathogenic Escherichia coli. *Nat. Rev.*
- Kaper, J. B. (2004). Pathogenic Escherichia coli. *Nat. Rev. Microbiol.* 2: , 123-140.
- Koulikoff, F. s. (2018). Résistance aux antibiotiques. *Inserm*. <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/resistance-antibiotiques>.
- Krause, G. S. (2005.). Investigation of domestic animals and pets as a reservoir for intimin- (eae) gene positive Escherichia coli types. . *Vet Microbiol* 106, , 87-95.
- Leclercq, R. C. (2013). EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect* 19(2), , 141-160.
- Mainil, J. .. (1999). Shiga/verocytotoxins and Shiga/verotoxigenic Escherichia coli in animals. . *Vet Res* 30:235- , 57.
- Mainil, J. G. (2005). Verotoxigenic Escherichia coli from animals, humans and foods: who's who? . *J Appl Microbiol* 98:. , 1332-44.
- Mainil, J. G. (2000). Le point des connaissances sur les enterites a Escherichia coli chez le veau. . *Ann. Med. Vet* 144, , 121-136.
- Martínez, J. L. (2008). Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Natural Environments ». *Science (New York, N.Y.)* 321 (5887) .
- Messai C., Khalef. D., Bokhors. K., (2011). *Antibiorésistance de souches E.coli isolées de poulets de chair atteints de colibacillose, à l'abattoir avicole de Sétif.*
- Milnes, A. S.-H. (2009). Factors related to the carriage of Verocytotoxigenic E. coli, Salmonella, thermophilic Campylobacter and Yersinia enterocolitica in cattle, sheep and pigs at slaughter. *Epidemiol Infect* 137, , 1135-48.
- Nataro, J. P. (1998.). Diarrheagenic Escherichia coli. *Clin Microbiol Rev* 11(1). , 142-201.
- Nataro, J. P. (1998). Diarrheagenic Escherichia coli.. *Clin. Microbiol. Rev.* 11: , 142-201.
- Nauciel et Vildé: Nauciel, C. e. (2005). *Bactériologie médicale.*
- Ndiaye, C. (2010). *Etude anatomo-clinique et bactériologique sur des cas suspects de colibacillose aviaire dans les régions de Dakar et Thies.*
- Nguyen TV, V. P. (2005). *J Clin Microbiol.* , 755- 760.
- Omar K, B. T.-s.-g.-P., & 71., 3. (2014). *World J Microbiol Biotechnol*(10) , 2663-2671.
- Orskov, F. a. (1992.). Escherichia coli serotyping and disease in man and animals. *Can J Microbiol* 38 , 699-704.
- Oulymata. G. (2007). *Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à gram négatif [Thèse]. Dakar : Université Cheikh Anta Diop de Dakar;.* Dakar.

- Philippon, A. .. (2008). Entérobactéries des bêtalactamines. Elsevier Masson SAS, Paris,;. *Biologie clinique 90-05-0145* , 1-18.
- Rahimi, M. (2013). *Antibiorésistances profile of avian pathogenic Escherichia coli isolates recovered from broiler chicken farms with colibacillosis in Kermanshah province, Iran.*
- Rahmatallah. N., (2016). *Detection des souches multirésistantes d'Escherichia coli d'origine avaire dan la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer.*
- Riley, L. W. (1983). Hemorrhagic Colitis Associated with a Rare Escherichia coli Serotype. . *N. Engl J. Med.* 308: , 681-685.
- Ruppé, E. (2010). Epidemiology of expanded-spectrum beta-lactamases: The rise of CTX-M. *Antibiotiques* 12 , 3-16.
- Russo, T. A. (2000). Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of Escherichia coli. *ExPEC. J. Infect. Dis-4.* , 181:1753.
- S. S. (2015). Antibiotic resistance and extended spectrum betalactamases: Types, epidemiology and treatment Saudi. *J Biol Sci.* 2015 Jan; 22(1) , 90–101.
- Servin, A. L. (2005). Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering Escherichia coli. *Clin Microbiol Rev* 18 , 264-92.
- Stamm, W. E. (2001). Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J Infect Dis* 183 *Suppl 1* , S1-4.
- Stenutz, R. A. (2006). The structures of Escherichia coli Opolysaccharide antigens. *FEMS Microbiol Rev* 30: , 382-340.
- Stenutz, R. A. (2006). . The structures of Escherichia coli Opolysaccharide antigens. *FEMS Microbiol Rev* 30: , 382-40.
- Tankovic, J. F., & .. (2000). Mécanisme d'action des antibiotiques. *Précis de bactériologie clinique, Edition ESKA* , 583.
- Tostain J., A. C. (1999). Cystites aiguës et autres maladies inflammatoires bénignes de la vessie féminine. *Encycl. Med. Chir. Néphrologie-urologie. Elsevier ed, Paris.:18-221-A-199* . , .16.
- Tozzi, A. E. (1988). Shiga toxin-producing Escherichia coli infections associated with hemolytic uremic syndrome, Italy,. 2003 , 120.
- Tricia D Miles, Wayne Mclaughlin and Paul D.Brown (2006). *Antimicrobial resistance Escherichia coli isolates from broiler chickens and humans.*
- V, S. O. (2018). Les diarrhées aiguës communautaires infantiles . *Disponible sur: <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/16362>* .
- Vila J, S.-L. E.-M.-B. (2016). Escherichia coli: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiol Rev; 40(4)*

Vilchez S, R. D. (2009). Prevalence of diarrhoeagenic Escherichia coli in children from Leon. *J Med Microbiol* ;58(5):630 7 , 630 7.

Wang, Y. Z. (2004.). Role of S fimbriae in Escherichia coli K1 binding to brain microvascular endothelial cells in vitro and penetration into the central nervous system in vivo.. *Microb Pathog* 37: , 287-93.

Wright G.D., B. r. (2005). Bacterial resistance to antibiotics : enzymatic degradation and modification, . *Adv. Drug Deliv.Rev.*, 2005,57, , 1451-1470.

Zhu, C. S. (1996). Detection and localization of the EaeA protein of attaching and effacing Escherichia coli O45 from pigs using a monoclonal antibody. *Microbial Pathog* 21: , 205-213.