



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

Antibiorésistance d'*Escherichia coli* chez les bovins

Présenté par :

Tahri Abderrahmane et Krichane Aghiles

Devant le jury :

Président(e) :	Besbaci M	MAA	ISV-B
Examineur :	Akkou M	MCB	ISV-B
Promoteur :	SADI M	MAA	ISV-B

Année universitaire 2018 - 2019

REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu pour son aide vers le chemin du savoir.

A Dr SADI MADJID, notre promoteur, pour avoir proposé ce sujet et pour ses précieux conseils et ses critiques constructives.

A Dr Besbaci M pour nous avoir fait l'honneur d'être notre président de jury. Sincères remerciements.

A Dr Akkou M pour avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie du membre de jury. Mes remerciements

On remercie aussi le Dr Menoueri Directeur de l'Institut de Science Vétérinaire de Blida pour avoir mis à notre disposition le laboratoire de recherche de microbiologie pour la réalisation de notre partie expérimentale.

A Dr AHMED AMARA pour son aide précieux dans la récolte des prélèvements.

A toute personne qui a participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail.

DEDICACES

Au nom d'Allah le plus grand merci lui revient de nous avoir guidés vers le droit chemin.

Je Dédie ce travail.

A mes cher parents ; symboles de sacrifice, de tendresse d'amour. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mes chers frères : Ali et Abderrahmane.

A mes deux grands-mères à qui je souhaite une longue vie inchalah.

A toute ma famille maternelle et paternelle. A tous ce qui me sont chers.

A tous mes amis en particulier Nassim Eldjenadi, Hadji Ahcen, kaci koucaïla, Agguini Amazigh, Samra Imarazene.

A Mon binôme Tahri Abderahmane

DEDICACES

Je Dédie ce travail.

A mes très chers parents, en hommage à tous les sacrifices que vous avez consenti pour moi durant mes longues années d'études. Je vous remercie d'avoir fait de moi ce que je suis maintenant et de m'avoir appris de vivre dans l'honneur et dans la dignité.

A mon cher frère Mohamed Saïd et mes chers sœurs Yasmine et Imane.

A toute ma famille surtout mes deux grands-mères et mon grand-père a qui je souhaite une longue vie.

A tous mes amis surtout Agguini Amazigh, Hadji Ahcen.

A mes amis d'enfance Aloine Idir et Chikhi Rachide.

A Mon binôme Krichane Aghiles

RESUME

Escherichia coli est un agent pathogène opportuniste, à fort potentiel épidémique, fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales. L'augmentation et la dissémination de la résistance aux antibiotiques chez cette espèce, représente un problème majeur pour la santé animale ainsi que la santé publique. L'objectif de cette étude est de faire le point sur l'état actuel de la résistance aux antibiotiques chez *E. coli* dans les élevages Algériens.

Un total de 50 prélèvements a été collecté, entre septembre et février 2019, à partir de différents élevages de la région de Freha à la wilaya de Tizi Ouzou.

La méthode classique utilisée repose sur plusieurs étapes pour l'obtention d'un résultat après 18 à 24 heures (observation microscopique, macroscopique, galerie biochimique classique, galerie biochimique API 20E et antibiogramme). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques, dont β -lactamines (44,44%), Aminosides (83,33%), quinolones (25,00%), la colistine(100%) et le triméthoprime/sulfaméthoxazole (25,00%), a révélé une émergence de la résistance de cette bactérie contre de nombreux antibiotiques ainsi l'augmentation de la fréquence des souches multirésistantes, dans cette espèce dans les élevages de la région, ce qui nécessite d'établir des mesures de contrôle pour éviter leur diffusion.

Mots clés :

Escherichia coli, antibiorésistance, bovins.

ABSTRACT

Escherichia coli is an opportunistic pathogen with a strong epidemic potential, frequently involved in nosocomial infections. The increase and spread of antibiotic resistance in this species represents a major problem for animal health and public health worldwide. The objective of this study is to take stock of the current state of antibiotic resistance in *E. coli* in Algerian farms.

A total of 50 samples were collected between September and February 2019 from different farms of Freha region, Tizi Ouzou wilaya.

The classical method used is based on several steps to obtain a result after 18 to 24 hours (microscopic observation, macroscopic, classical biochemical gallery, API 20E biochemical gallery and antibiogram). The study of antibiotic susceptibility, including β -lactam antibiotics (44.44%), Aminositides (83.33%), quinolones (25.00%), colistin (100%) and trimethoprim / sulfamethoxazole (25, 00%), has revealed an emergence of this bacterium's resistance against many antibiotics and the increase in the frequency of multiresistant strains, in this species in the of the region's farms, which requires establishing control measures to avoid their diffusion.

Key words:

Escherichia coli, antibiotic resistance, bovins.

ملخص

إشيريشيا كولي هو ممرض انتهازى ذو احتمالية وباء مرتفعة و غالبا ما يكون مسؤول عن الالتهابات المكتسبة. ارتفاع و انتشار مقاومة هذه البكتيريا للمضادات الحيوية هو مشكلة رئيسة للصحة الحيوانية و البشرية في جميع انحاء العالم. و الهدف من هذه الدراسة متعددة المراكز هو تقييم الوضع الحالي لمقاومة إكولي للمضادات الحيوية في مزارع الأبقار في الجزائر. تم جمع ما مجموعه 50 عينة بين شهري سبتمبر و فبرابر 2019 من مزارع مختلفة في منطقة فريجة بولاية تيزي وزو. تعتمد الطريقة الكلاسيكية المستخدمة على عدة خطوات للحصول على نتيجة بعد 18 إلى 24 ساعة (الملاحظة المجهرية ، و الملاحظة بالعين المجردة، و التجارب البيوكيميائية الكلاسيكية، و عن طريق galerie API 20E ، و مدى مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية). دراسة الحساسية للمضادات الحيوية ، بما في ذلك المضادات الحيوية: بيتالكتامين (44.44 ٪) ، المينوسيدات (83.33 ٪) ، الكينولون (25.00 ٪) ، كوليستين (100 ٪) و تريميثوبريم / سلفاميثوكسازول (25.00 ٪) ، كشفت عن ظهور مقاومة لهذه البكتيريا ضد العديد من المضادات الحيوية ، و زيادة في نسبة انتشار سلالات متعددة المقاومة من هذا النوع في مزارع المنطقة ، الأمر الذي يتطلب وضع تدابير ل التحكم فيها و تجنب انتشارها.

الكلمات المفتاحية:

إشيريشيا كولي، مقاومة للمضادات الحيوية، الأبقار

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification d' <i>Escherichia coli</i> (Stewart, 2015)	04
Tableau 02 : Caractères biochimiques d' <i>Escherichia coli</i> (FLAUDROIS, 2004).....	06
Tableau 03 : Définition et espèces cibles des différents pathovars d' <i>E. Coli</i> regroupés par classes, d'après (MAINIL J. , 2003).....	13
Tableau 04 : principaux facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance bactérienne (Murthy, 2001) (Rybak, 2004)	20
Tableau 05 : la résistance aux cyclines, Triméthoprime, Sulfamides, et Macrolides chez <i>Escherichia coli</i> (McDermott, 2003).....	26
Tableau 06: Nombre de prélèvements positifs par ordre de sexe.....	36
Tableau 07: Nombre de prélèvements positifs par tranche d'âge.....	36
Tableau 08 : résultats des antibiogrammes.....	39
Tableau 09 : Fréquence des multi résistances d' <i>E. Coli</i>	40

Liste des figures

Figure 01: Cycle de vie d' <i>Escherichia coli</i> (Bousseboua H, 2005).....	04
Figure 02 : <i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique (Thorene G, 1994).....	05
Figure 03 : représente les déférents antibiotiques et leurs organismes producteurs.....	19
Figure 04 : Boite pétri avec gélose MacConkey (photos personnelles).....	30
Figure 5 : Boite pétri avec gélose MacConkey avec apparitions des colonies rose après incubation (photos personnelles).....	30
Figure 6 : bec bunsen (photo personnelle).....	30
Figure 7 : galerie API 20E (Photos personnelles).....	33
Figure 8 : Préparation de l'inoculum (Photos personnelles).....	33
Figure 9 : Boite pétri avec gélose Mueller Hinton (Photos personnelles).....	35
Figure 10 : Boite pétri avec gélose Mueller Hinton les disques d'antibiotiques (Photos personnelles).....	35
Figure 11 : pourcentage de culture positive et de culture négative.....	35
Figure 12 : distribution des prélèvements positifs en fonction de sexe.....	36
Figure 13 : distribution des prélèvements positifs en fonction de l'âge.....	37
Figure 14 : Boite pétri avec gélose MacConkey avec apparitions des colonies rose après incubation (photos personnelles).....	37
Figure 15 : observation au microscope optique d' <i>E. Coli</i> . (Gr.10×100).....	38
Figure 16: profil biochimique sur galerie API 20E d' <i>E. Coli</i>	38
Figure 17 : sensibilité globale des souches vis-à-vis des antibiotiques testés.....	39
Figure 18 : exemple d'antibiogramme sur gélose Mueller-Hinton.....	40
Figure 19 : pourcentage fréquence des multirésistances d' <i>E. Coli</i>	41

Liste des abréviations

AAEC: Les *Escherichia coli* entéroagrégatifsEaggEC.

ADN : acide désoxyribonucléique.

APEC: Avianpathogenic *E. coli*.

BGP : bactéries à Gram positif.

BLSE : β -lactamases à spectre élargi.

DAEC: Les *Escherichia coli* à adhésion diffuse.

EHEC: Les *Escherichia coli* entérohémorragiques.

Ehly: entérohémolysines.

EIEC: Les *Escherichia coli* entéroinvasifs.

EMB: EMB EosinMethylene Blue Agar.

EPEC: Les *Escherichia coli* entéropathogènes.

ETEC: les *Escherichia coli* entérotoxinogènes.

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

Glu: glucuronidase.

LDC: lysine décarboxylase.

MPEC: Mammopathogènes.

NMEC: Neonatalmeningitis *E. coli*.

NTEC: Nécrotoxinogènes.

ODC: l'ornithine décarboxylase.

SEPEC: Autres dont Septicémiques.

TSA : trypticase-caséine-soja.

VTEC (STEC): Vérotoxinogènes (Shigatoxinogènes).

TABLE DES MATIERES

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des tableaux et figures

Liste des abréviations

Introduction 1

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

PREMIER PARTIE : Escherichia coli

1. Historique d' <i>E. Coli</i>	3
2. Généralités concernant l'espèce <i>E. coli</i>	3
3. Taxonomie de l'espèce <i>E. coli</i>	3
4. Habitat d' <i>E coli</i>	4
5. Cycle de vie <i>E. Coli</i>	5
6. Caractères généraux d' <i>E. Coli</i>	5
6.1 Caractères morphologiques et culturaux	5
6.2 Caractères biochimiques	5
7. Antigènes d' <i>E Coli</i>	6
7.1-Antigènes somatique O	6
7.2- Antigènes de surface ou d'enveloppe K	7
7.3-Antigènes flagellaires H	7
8. Génome <i>E. Coli</i>	8
8.1-La diversité génétique	8
8.2-Les éléments mobiles de pathogénicité	9
9. Pouvoir pathogène <i>E. Coli</i>	10
9.1- facteurs de virulence	10
9.1.1- facteurs de virulence potentiels	10
9.1.2- facteurs d'adhésion	11
9.1.3-L'entérohémolysine d' <i>Escherichia coli</i>	11

10. Classifications des <i>E. Coli</i>	12
10.1. Sérotypes	12
10.2. Pathovars	12
11. Traitement contre <i>E. coli</i>	15
11.1-Traitement curatif	15
11.2-Traitement préventif	15

Deuxième partie : antibiotiques

1. Définition et origine des antibiotique	16
2. Mode d'action	16
2.1. Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne	16
2.2. Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique	17
2.3. Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs Précurseurs	17
2.4. Antibiotiques inhibiteurs de voies métaboliques	18
2.5. Antibiotiques anti-anaérobies	18
3 .Critères de Classification	18

TROISIEME PARTIE : La résistance aux antibiotiques

1. Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance	20
2. Types de résistance	21
2.1 Résistance naturelle (ou intrinsèque)	21
2.2 Résistance acquise	21
3. Mécanismes	21
3.1 Inhibition enzymatique	21
3.2 Réduction de la perméabilité cellulaire	22
3.3 Altération (ou modification) des sites de liaison	22
3.4 Pompes (transporteurs) à efflux	22
4. Résistance aux antibiotiques chez <i>Escherichia coli</i>	23
4.1 Résistance aux β -lactamines	23
4.2 Résistance aux aminosides	24
4.3 Résistance aux quinolones	24
4.4 Résistance aux cyclines, Triméthoprim, Sulfamides, et Macrolides	26

ETUDE EXPERIMENTALE

1. Objectifs de l'étude	27
2. Cadre de l'étude	27
3. Matériel et Méthodes	27
3.1. Premier Etape	27
3.1.1 L'échantillonnage	27
3.1.2 Prélèvements	28
3.2 Deuxième étape	28
3.2.1. Protocole	29
3.2.2. Méthode bactériologique	29
3.2.2.1. Enrichissement dans un milieu non sélectif liquide	29
3.2.2.2. Préparation et ensemencement du milieu de culture	29
3.2.2.3. Purification	30
3.2.2.4. Identification	31
4. Résultats	35
4.1. Distribution des prélèvements en fonction du sexe et d'âge	35
4.2. Examen bactériologique	37
4.3. Résultats des antibiogrammes	38
Discussion.....	42
Conclusion.....	47
Recommandations.....	48
Références bibliographies	50

Introduction

La découverte des antibiotiques au début du XXe siècle a constitué une véritable révolution dans le domaine médical. Ces molécules ont été considérées comme étant des armes puissantes qui sauraient éradiquer toute maladie infectieuse d'origine bactérienne. Cette euphorie, longtemps entretenue par la synthèse de nouveaux antibiotiques, a connu un coup d'arrêt vers la fin des années 90(Monnet, 2000).

En effet, devant l'augmentation des infections nosocomiales à bactéries à Gram positif (BGP), les années 1990 et le début des années 2000 ont été marquées par la diffusion des BGP multirésistantes et plus particulièrement des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) et des entérocoques résistants aux glycopeptides(Hiramatsu, 2001). Pour cela, de nouvelles molécules destinées à traiter ce type de germes ont été développées, mais ceci aux dépens de bacilles à Gram négatif (BGN), chez lesquels sont apparues de multiples résistances (Bush, 2010).

Les entérobactéries, en particulier *Escherichia coli*, sont des résidents habituels du tractus gastro-intestinal, susceptibles de provoquer de très nombreuses infections, même chez des sujets sans pathologie. *E. coli*, en dépit de son image de bactérie communautaire représente la première cause d'infection nosocomiale dans plusieurs pays (Soussy, 2000)(Amazian, 2010).

Les bovins peuvent également héberger des souches d'*E. Coli* résistantes aux antibiotiques.

Ces souches d'*E. Coli* résistantes aux antibiotiques peuvent être transmises à l'homme soit par contact direct avec les bovins, soit indirectement via l'ingestion d'aliments d'origine bovine crus ou insuffisamment cuits, mais aussi à travers l'environnement.

La multirésistance des souches d'*E. Coli* est principalement lié à la production de β -lactamases à spectre élargi (BLSE), à l'hyperproduction de céphalosporinases ou à la production de carbapénémases, qui sont souvent associées à la résistance aux aminosides et/ou aux quinolones (Courvalin, 2012).

La survenue d'infections, à *E. coli*, intraitables par des antibiotiques n'est plus une simple menace pour l'avenir mais une réalité actuelle. Pouvoir endiguer ou du moins maîtriser cette problématique, nécessite une meilleure compréhension des mécanismes d'acquisition de résistance aux antibiotiques afin de mieux contrôler sa dissémination et pour une meilleure prise en charge thérapeutique.

Dans la cadre de notre thèse, nous nous sommes focalisés sur la contamination des effluents d'origine bovine à l'origine de la dissémination environnementale des *E. coli* porteuses de résistance.

L'objectif de ce travail de thèse était de préciser la contamination des effluents d'origine bovine par des souches d'*E. Coli* antibiorésistantes. Il s'est déroulé en deux parties

La première partie consiste en une synthèse bibliographique présentant l'agent pathogène *E. coli* et rappelant les caractéristiques et les mécanismes d'action des antibiotiques. A la fin de cette partie, sont présentés également les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques et en particulier les mécanismes de résistance d'*E. Coli*. Ensuite, dans une deuxième partie consiste à une étude expérimentale dans laquelle on a présentés le matériel et les méthodes utilisés et les résultats obtenus.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

PREMIER PARTIE : *Escherichia coli*

1. Historique d'*E. Coli* :

En 1885, l'allemand Theodore Escherich décrit pour la première fois la bactérie *Escherichia coli*. En 1904, cette même bactérie a été isolée dans un cas d'infection urinaire et en 1919, Castellani et Chalmers donnent le nom d'*Escherichia* à cette bactérie en hommage aux travaux de T. Escherichia (Buttiaux, 1956).

Dans les années 1950, de nombreuses souches d'*E. Coli* ont été incriminées en tant qu'agent étiologique de diarrhées infantiles. (Le Minor, 1956).

2. Généralités concernant l'espèce *E. coli* :

Escherichia coli, également appelée colibacille et abrégée en *E. coli*, est un bacille gram négatif radiorésistant aérobie-anaérobie facultatif (AAF). C'est un type de coliforme fécal faisant partie des bactéries trouvées dans les intestins d'humains et d'animaux à sang chaud. En effet, elle compose environ 80 % de notre flore intestinale aérobie. . En plus de l'espèce *E. coli*, il existe au sein du genre *Escherichia* cinq autres espèces : *E. albertii*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulneris*. Chaque espèce présente des caractéristiques biochimiques spécifiques qui permettent de les différencier. (Grimont, 1987).

La plupart des *Escherichia coli* sont inoffensifs et ont une fonction utile dans le corps en arrêtant la croissance des espèces bactériennes nuisibles et en synthétisant des vitamines nécessaires (vitamines K), qui aide à la coagulation sanguine (ARIL, 1988). Cependant, elles peuvent être des pathogènes opportuniste ou provoque des maladies chez des individus sains quand elles sont ingérées (CHALMERS, 2000).

3. Taxonomie de l'espèce *E. coli* :

L'espèce *Escherichia coli* fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle a été caractérisée sur les plans phénotypique, biochimique et physiologique. Aujourd'hui, ce sont des techniques basées sur l'utilisation de l'ADN qui permettent une étude génétique des populations et la caractérisation des différentes souches d'*Escherichia coli*. (Stewart, 2015).

Tableau 01 : Classification d'*Escherichia coli* (Stewart, 2015) .

Domaine	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Entérobactérie
Famille	Enterobactériaceae
Genre	Escherichia
Espèce	Escherichia coli

4. Habitat d'*E coli* :

Les entérobactéries peuvent être saprophytes, commensales et pathogènes. Le cas d'*Escherichia coli* est typique. Cette bactérie est retrouvée dans les eaux souvent en provenance d'une contamination fécale, dans l'intestin (Thorene, 2000). Cependant, bien que la majorité des souches d'*Escherichia coli* soient commensales, certaines d'entre elles sont associées à des pathologies intestinales ou extra-intestinales très diverses chez l'homme et les animaux. (Montet, 2009).

5. Cycle de vie *E. Coli* (Bousseboua, 2005) :

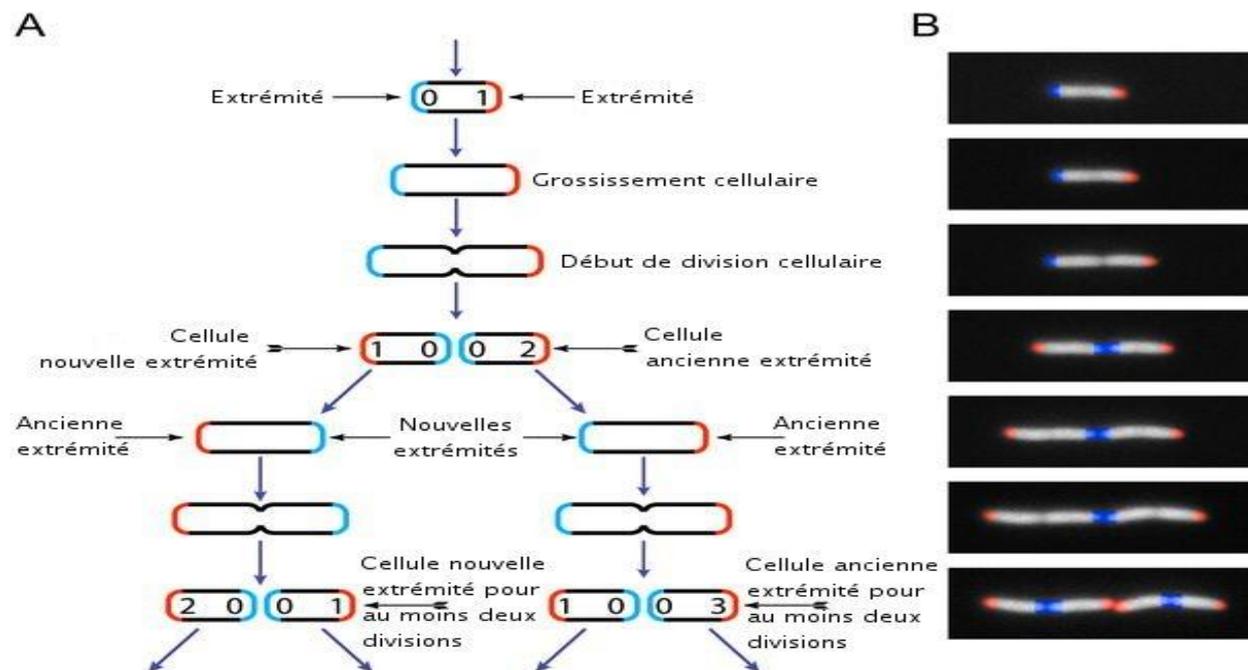
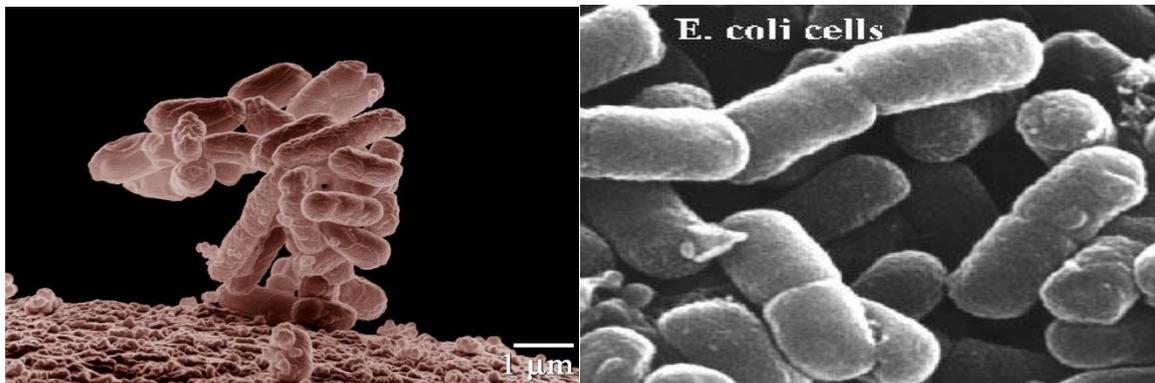


Figure 01: Cycle de vie d'*Escherichia coli* (Bousseboua, 2005).

6. Caractères généraux d'*E. Coli*:

6.1 Caractères morphologiques et cultureux :

Escherichia coli est une bactérie asporulée mesurant 2 à 4 μ de long sur 0,4 à 0,6 μ de large pesant de 0,5 à 5 picogrammes. C'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche ou immobile. Sa température optimale de croissance est de 37°C. Bactérie non exigeante, elle est capable de croître sur des milieux ordinaires tels que le milieu TSA (trypticase-caséine-soja). Ce germe non exigeant, sur gélose ordinaire donne des colonies lisses, brillantes et homogènes (LOBRIL, 1998). Devient vert métallique sur gélose EMB (Eosin Methylene Blue Agar) et Devient rose sur milieu MacConkey. Ils sont des bactéries en croissance rapide et plus grandes que les bactéries quiescentes. (Dennis, 1996).



Escherichia coli Grossissement x / 1000
(Thorene, 1994)

Escherichia coli en microscopie électronique
photo (Sauvager).

Figure 02 : *Escherichia coli* sous microscope électronique (Thorene, 1994).

6.2 Caractères biochimiques :

C'est une bactérie ne possédant pas de désaminase, ce qui exclut les genres *Proteus*, *Morganella* et *Providencia* (typiquement ex-tribu des Proteae).

Elle fermente le glucose (Création de gaz dans un tube Durham) par la voie des acides mixtes (rouge de méthyle +, VP -) ce qui exclut les genres *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* et *Serratia* (typiquement groupe des KEHS, ex-tribu des Klebsiellae) (Fluadroit, 2004).

- *E. coli* est capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole et possède différentes enzymes telles que la lysine décarboxylase (LDC), l'ornithine décarboxylase (ODC) et la glucuronidase (Glu). La majorité des souches fermente le sorbitol. La plupart des caractéristiques

biochimiques sont partagées par l'ensemble des *E. coli* en dehors du sérotype O157 :H7 qui ne fermente pas le sorbitol, à l'exception de certains mutants qui ont la capacité de fermenter ce sucre et qui sont dépourvus de l'activité Glu.(King, 2014)

- Ces caractéristiques particulières sont utilisées pour sa recherche et son isolement dans l'environnement et l'alimentation (ISO16654, 2001).
- L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces dernières permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille (FLAUDROIS, 2004).

Tableau 02 : Caractères biochimiques d'*Escherichia coli* (FLAUDROIS, 2004).

TEST	GLU	LAC	H2S	GAZ	CS	GEL	MAL	LDC	NIT	ODC	ADH	URE	TDA	VP	ESC
RESULTAT	+	+	+	+	-	-	-	+/-	-	+/-	+/-	-	-	-	-

+ : Caractère positif - : Caractère négatif +/- : Caractère inconstant

7. Antigènes d'*E Coli* :

7.1- Antigènes somatique O :

L'antigène somatiques O sont de nature lipopolysaccharide (LPS) composés de plus de 150 de lipopolysaccharides complexes et sont situés sur la de la membrane externe (faisant partie intégrante de la paroi cellulaire fine) des bactéries à Gram négatif. Il contient un grand nombre d'unités répétées d'oligosaccharides de 3 à 6 sucres dont la combinaison détermine la diversité des antigènes O. Les gènes codant les enzymes impliquées dans la synthèse de l'antigène O sont regroupés dans le groupe de gènes *rfb*, un profil noté « R » peut être obtenu par électrophorèse correspondant à un séro groupe de *Escherichia coli* (SURVEILLANE, 1997).

Actuellement certains laboratoires d'analyses médicales utilisent l'agglutination avec des sérums pour déterminer le séro groupe, mais cette technique est limitée par le nombre de plus en plus élevé de sérums à fabriquer, par la présence d'agglutination croisée entre les antigènes O de *Escherichia coli*, *Shigella* et ceux de *Salmonella*, et par le passage de la consistance crémeuse de la colonie à une consistance rugueuse ayant pour conséquence l'absence de synthèse de l'antigène O C'est pour cette raison qu'une technique de sérotypage moléculaire a été développée. (SURVEILLANE., 1997).

7.2- Antigènes de surface ou d'enveloppe K :

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

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

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

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

7.3-Antigènes flagellaires H :

L'antigène flagellaire H (AgH) est de nature protéique et entre dans la construction du flagelle permettant la mobilité de la bactérie. Cependant, certaines souches perdent leur mobilité et sont classées comme non mobiles (NM ou H-). Il ne servent pas à l'identification des *E. coli* pathogènes mais présentent un grand intérêt au point de vue. La diversité des antigènes H est due aux différents types de flagelline composant la structure du flagelle. Le typage s'effectue également par séro-agglutination, mais n'est développé que dans de très rares laboratoires dans le monde. (Reid S. D., 1999). L'antigène H est codé par le gène *fliC*. Les *E. coli* immobiles possèdent également le gène *fliC* mais sont incapables de synthétiser un flagelle fonctionnel (Machado, 1998).

8. Génome *E. Coli*:

8.1-La diversité génétique :

E. coli est l'espèce bactérienne la plus étudiée à ce jour. C'est au sein de cette espèce qu'il existe le plus de génomes disponibles, entièrement séquencés et annotés : environ 3 690 génomes de *E. coli* étaient disponibles dans GenBank en Novembre 2015. (Blattner et *al.*, 1997)). Leur génome comprend 4,6 millions de paires de bases codant environ 4 200 protéines. Ceci témoigne du remarquable potentiel évolutif et de la versatilité de ce taxon bactérienne. En effet, les souches d'*Escherichia coli* pathogènes ont acquis au cours de l'évolution un répertoire de gènes de virulence, qui leur permettent de coloniser de nouvelles niches écologiques en contournant les mécanismes de défense de l'hôte (Dobrint, 2005).

L'ensemble des gènes de l'espèce *E. coli* constitue le pan-génome de cette espèce bactérienne où actuellement plus de 18 000 gènes ont été répertoriés (Elsaset, 2011). Le pan-génome d'*E. Coli* se compose de trois parties:

- le core-génome ou le génome universel qui regroupe les gènes communs à toutes les souches, c'est la partie stable du génome. Le core-génome code les fonctions vitales de la cellule Cette partie regroupe environ 2 000 gènes et représente environ 11 % du pan-génome d'*E. coli*. (Dobrint, 2005)
- le génome unique regroupe les gènes spécifiques à une souche. C'est une partie variable, non commune à toutes les souches, qui code des protéines impliquées dans l'amélioration de la « fitness » de la bactérie, dans des mécanismes de colonisation et d'adaptation de la bactérie aux différentes conditions environnementales rencontrées sans fonction évidente et est conditionnée par la présence d'éléments génétiques mobiles tels que les plasmides, les bactériophages ou les îlots de pathogénicité. Ces éléments sont intégrés dans le chromosome bactérien ou bien répliqués de manière indépendante grâce à la machinerie cellulaire Cette partie regroupe environ 63 % du pan génome (Dobrint, 2010).
- le génome périphérique ou volatil regroupe l'ensemble des gènes présents uniquement dans un sous-ensemble de souches. Cette partie est utilisée pour distinguer les souches entre elles et elle est notamment porteuse de l'information concernant les sérotypes. La fonction de la plupart des gènes dans cette catégorie est mal connue. Cette partie représente environ 26 % du pan-génome (Dobrint, 2010).

8.2-Les éléments mobiles de pathogénicité :

Les éléments génétiques ainsi échangés peuvent se regrouper en 4 catégories : les plasmides, les transposons, les phages et les îlots de pathogénicité (Mainil, 2003).

- Les plasmides : Ils sont définis comme étant des structures d'ADN double brin, circulaire et autonome du chromosome bactérien par rapport à leur contrôle et leur réplication. Leur taille varie de quelques kilo bases à quelques centaines de kilo bases. Ils peuvent être transférés horizontalement par conjugaison ou mobilisation, entre bactéries de même espèce ou non. Ce sont les éléments du génome les plus mobiles (Mainil, 2003).
- Les transposons : Ils sont des séquences d'ADN qui peuvent être transférées avec ou sans réplifications depuis un chromosome vers un ou plusieurs plasmides. Ils ne sont pas autonomes (Guiraud, 1993).
- Les phages : incorporés au chromosome ou au plasmide, apportent de l'information génétique supplémentaire à leur bactérie de l'hôte (Guiraud, 1993).
- Les îlots génomiques et/ou de pathogénicité : Ces îlots se caractérisent par un contenu G+C qui diffère du reste du génome, par des motifs de séquences répétés qui flanquent leurs extrémités, et par une insertion chromosomique au niveau des gènes d'ARN de transfert. Ces caractéristiques témoignent de leur acquisition par un processus de transhorizontal. Ils comprennent environ entre 10 et 200 kb, ce qui représente de vastes parties du génome (Hacker, 2000). Ils ont été initialement identifiés chez les *Escherichia coli* uro-pathogènes. (Dobrindt, 2002). Les îlots confèrent donc à la bactérie hôte des fonctions ou de la capacité supplémentaire d'adaptation au milieu, de résistance aux antibiotiques, capacités métabolique (la capture du fer), capacité de symbiose ou de virulence par exemple la plupart des gènes codant pour la production de facteurs de virulence chez *Escherichia coli* trouvent dans des îlots de pathogénicité (Hacker, 2000).

9. Pouvoir pathogène *E. Coli*:

9.1 facteurs de virulence :

La définition des facteurs de virulence et la compréhension des mécanismes impliqués dans le pouvoir pathogène des souches d'*Escherichia coli*.

L'étude des facteurs de pathogénicité d'*Escherichia coli* a montré que dans l'espèce, il existe de nombreuses variantes des facteurs (Escobar, 2006) :

9.1.1. facteurs de virulence potentiels :

- Une capsule qui s'oppose à la phagocytose.
- Des protéines de la membrane externe et le LPS donnant aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément.
- Des systèmes de captation du fer : Les sidérophores : notamment codé par l'îlot de pathogénicité fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication, au détriment de la transferrine.
- Des toxines
 - L'endotoxine commune aux entérobactéries
 - Les entérotoxines ST (thermostables) et LT (thermolabiles). Ce sont des toxines cytotoxiques qui agissent sur le contrôle entérocytaire de la sécrétion hydro-électrolytique la toxine LT est proche de la toxine cholérique.
 - Les cytotoxines SLT1 et SLT2 (Shiga-like toxine). Ce sont des toxines qui altèrent l'intégrité des entérocytes. On les appelle encore des vero-toxine (VT) à cause de leur effet toxique sur les cellules vero en culture. (Vervet origine - vervet, un singe africain) (Levine, 1998).
 - Sat et Vat : Sat (secreted autotransport toxin) et Vat (vacuolating autotransport toxin) sont des toxines de type V, de la famille des auto-transporteurs. Elles vont produire une vacuolisation et un engorgement cellulaire. Vat toxine entré dans la pathogénèse d'une infection extra-intestinale d'*Escherichia coli* n'a pas encore été bien identifié. Sat toxine provoque un dommage sévère dans les reins, perte de la membrane glomérulaire, perte de l'épithélium des tubules, et une vacuolisation du tissu, mais sans avoir un rôle déterminé dans la colonisation de la bactérie (Kaper, 2004).

- Des protéases, telles que la sérine protéase, la catalase peroxydase, la métallo-protéase.
- Des systèmes de résistance à l'acidité gastrique et des uréases (Guyer, 2002).

9.1.2 Facteurs d'adhésion :

Les adhésines confèrent aux souches d'*Escherichia coli* la propriété de se fixer aux cellules épithéliales, de nature protéique, elles sont portées le plus souvent par des pili communs. L'adhérence constitue une étape essentielle de la pathogénèse due aux bactéries entériques. Les principaux sont les facteurs impliqués dans le développement des lésions d'attachement et d'effacement (A/E) des entérocytes, qui est responsable de diarrhées, et se caractérisent par un effacement des microvillosités des cellules de l'épithélium intestinal dans la zone de contact entre la bactérie et la cellule cible (MAINIL, 1999). Les adhésines confèrent à la bactérie la capacité de s'attacher aux récepteurs spécifiques de l'hôte (MAINIL, 1999).

9.1.3 L'entérohémolysine d'*Escherichia coli* :

L'hémolysine nommée E-HlyA est une protéine codée par le gène *ehxA* sur l'opéron plasmidique *ehxCABD*. E-HlyA appartient aux groupes des toxines RTX (Repeats in Toxin); son mécanisme consiste à s'insérer dans la membrane plasmique, formant des pores, ce qui aboutit à la lyse osmotique de la cellule cible consécutive à la fuite du contenu cellulaire plasmatique, en provoquant la lyse des hématies, les hémolysines provoquent la libération de fer dans le milieu ce qui est propice au développement des bactéries (Soloaga, 1999).

Plusieurs types d'hémolysines (α , β , etc...) (Holland, 1999) sont produits par des souches d'*Escherichia coli* pathogènes (ExPEC, EIEC, ETEC...) et sont actifs sur différents types cellulaires tels que les lymphocytes, les granulocytes, les érythrocytes et les cellules épithéliales rénales. Certaines, actives seulement sur des érythrocytes lavés, ont été retrouvées chez des souches EHEC et sont dénommées entérohémolysines (Ehly) (Kaper, 2004).

10 Classifications des *E. Coli* :

Plusieurs classifications des *E. coli* existent. Les deux principales développées ici reposent sur les caractères antigéniques pour la première et sur les caractères physio-pathogéniques pour la seconde.

10.1. Sérotypes :

Pour déterminer le sérotype d'un *E. coli* préalablement isolé, plusieurs techniques sont possibles. Les plus couramment utilisées en laboratoire sont la PCR et la séroagglutination sur lame. Cette technique nécessite l'utilisation d'antiséras spécifiques. On peut ainsi rechercher certains types d'*E. Coli*, en cherchant successivement les antigènes O, H et K les plus souvent retrouvés. Cependant, face à la très grande diversité parmi ces trois sortes d'antigène, il est aisé de comprendre qu'une recherche exhaustive est impossible. Cette méthode présente un intérêt dans l'identification des colibacilles isolés dans l'alimentation humaine, certains sérotypes posant particulièrement problème en hygiène alimentaire. C'est par exemple le cas d'*E. Coli* O157:H7, retrouvé dans les denrées transformées comme le steak haché. Cette classification aura peu d'intérêt en pathologie bovine (même si la présence d'*E. coli* O157:H7 dans un élevage augmente le risque de contamination des denrées qu'il produit). (Hélène, 2014).

10.2. Pathovars :

Il est aussi possible de classer les *E. coli* par leur pouvoir pathogène, qui est intimement lié à la présence ou non des différents facteurs de virulence. Cette classification permet de distinguer de nombreux pathovars.

Il existe deux catégories de pathovars, en se basant sur leur pathogénicité :

- Les *Escherichia coli* à l'origine de pathologies extra- intestinales (infections urinaires (UPEC), méningites (MNEC) ou septicémies (ExPEC) (Russo, 2000).
- Les *Escherichia coli* à l'origine de pathologies intestinales (les *Escherichia coli* entérotoxigènes (ETEC), Les *Escherichia coli* entéro-pathogènes (EPEC), Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC), Les *Escherichia coli* entéroinvasifs (EIEC), Les *Escherichia coli* entéroagrégatifs (EaggEC (AAEC), Les *Escherichia coli* à adhésion diffuse ou (DAEC)). (MOLBAK, 2006).

Cette classification permet de distinguer de nombreux pathovars, regroupés par classe dans le Tableau 03 ci-après :

Tableau 03 : Définition et espèces cibles des différents pathovars d'*E. Coli* regroupés par classes, d'après (MAINIL, 2003).

Classe, maladies provoquées	Nom	Acronyme anglophone	Définition	Espèces cibles
Diarrhéogènes, Entérites Entérocolites	Entéro-invasifs	EIEC	Envahissement des entérocytes	Homme, primates
	Entérotoxigènes	ETEC	Production d'entérotoxines, accumulation de liquide dans l'intestin. Fimbriae F2 à F5 et F41	Ruminants, porc, Homme, (chien)
	Entéropathogènes	EPEC	Production de lésions d'attachement et d'effacement	Animaux, Homme
	Vérotoxinogènes (Shigatoxinogènes)	VTEC (STEC)	Production de toxines active sur les cellules Vero en culture	Ruminant ? Homme ?
	Entérohémorragiques	EHEC	Entérocolite souvent hémorragique, production de lésions d'A/E et toxines Vero	Homme, Ruminants
	« Diffuse adherent »	DAEC	Adhésion diffuse sur cellules de culture	Homme (animaux ?)
	Nécrotoxigènes	NTEC	Production de facteurs cytotoxiques nécrosants (CNF 1 et 2), fimbriae P, S et/ou F17, adhésinesAfa, hémolysine α	Animaux et Homme (NTEC1), Ruminants (NTEC2)
Entérotoxémiques, Maladie de l'œdème du porcelet	Vérotoxinogènes (Shigatoxinogènes)	VTEC (STEC)	Production de toxines active sur les cellules Vero en culture	Porcelet
Uropathogènes : Cystites Pyélonéphrites	Nécrotoxigènes	NTEC	Production CNF 1 et CNF2, de toxines cytoléthalesdistendantes (CDT), de fimbriae P, S et/ou F17 et/ou adhésinesAfa, hémolysine α	Homme, chien, chat
	Autres dont Uropathogènes	UPEC	Production de fimbriae P et/ou S, adhésineAfa, hémolysine α	Homme, animaux
Mammopathogènes : Mammites	Mammopathogènes	MPEC	Pas de facteur de virulence spécifique : origine fécale	Animaux, surtout ruminants
Invasives : Septicémie Bactériémie Infections systémiques	Nécrotoxigènes	NTEC	Production de CNF 1 et CNF2, de CDT, de fimbriae P, S et/ou F17 et/ou adhésinesAfa, hémolysine α ...	Animaux, Homme
	« Neonatalmeningitis E. coli »	NMEC	Production d'aérobactine, résistance au complément, fimbriae P, S et/ou F17 et/ou adhésinesAfa, antigène capsulaire K1	Homme
	« Avianpathogenic E. coli »	APEC		Oiseaux
	Autres dont Septicémiques	SEPEC	Production d'aérobactine, résistance au complément	Animaux, Homme

- ❖ En pathologie digestive bovine, cinq principaux sérovars sont à envisager :
 - Les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC) : Ces souches sont munies d'adhésines telles que l'adhésine F5 (anciennement K99) ou encore F41, Ainsi, les germes impliqués dans les diarrhées des veaux présentent un taux d'attachement de 80 %, contre seulement 10 à 20 % chez ceux isolés dans les fèces de veaux sains (FOSTER, 2009). Ils peuvent aussi produire des entérotoxines thermostables (ST1 ou ST2) ou thermolabiles (LT, non retrouvées chez les colibacilles des ruminants) (LAPLAZE, 2002).
 - Les *E. coli* entérotoxigènes (EPEC) : ces souches peuvent elles aussi s'ancrer aux entérocytes, et entraînent ensuite un effacement des villosités ;
 - Les *E. coli* vérotoxigènes (VTEC) ou shigatoxigènes (STEC) : ces souches sont capables de produire des toxines actives sur les cellules Vero en culture, d'où le nom de vérotoxines
 - Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) : ces souches associent les capacités A/E des villosités des EPEC et la production de vérotoxines ;
 - Les *E. coli* entéronécrottoxigènes (NTEC) : ces souches produisent deux types de toxines : les facteurs cytotoxiques nécrosants (CNF1 et CNF2) et la toxine cytoléthalédistendante (CDT) qui agissent en synergie au niveau de l'épithélium intestinal.

Chacun de ces groupes présentant des facteurs de virulence qui leur sont propres, leurs mécanismes physiopathologiques diffèrent. Cependant, sur le plan clinique, il est encore une fois impossible de déterminer le pathovar incriminé sur la seule base de l'examen clinique d'un veau en diarrhée. Le recours à des examens de laboratoire est nécessaire pour cela (TOUZEAU, 2009). La détermination précise du sérotype ou du pathovar face auquel nous trouvons présente généralement peu d'intérêt clinique. Cependant, certaines souches jouent un rôle essentiel en pathologie humaine, et dont l'animal peut être un réservoir. Une telle détermination présente donc un intérêt majeur en termes de santé publique (LAPLAZE, 2002).

11 Traitement contre *E. coli* :

11.1 Traitement curatif :

Celui des infections urinaires et biliaires repose sur l'antibiothérapie et la correction des facteurs favorisants (anatomiques, calculs...). Le traitement curatif de diarrhées aiguës à colibacilles repose surtout sur la réhydratation. Le traitement des infections péritonéales repose sur le drainage et l'antibiothérapie (Croxen, 2010).

Escherichia coli est sensible à toutes les bêta-lactamines malgré la production d'une céphalosporinase chromosomique non inductible de type AmpC qui peut entraîner chez certaines souches une réduction de la sensibilité aux aminopénicillines, à leurs associations au clavulanate et/ou au C1G.

11.2 Traitement préventif :

- Le traitement préventif fait surtout appel aux mesures d'hygiène générale notamment alimentaire et aux mesures d'hygiène individuelle (Croxen, 2010).

- vaccin : A l'heure actuelle, aucun vaccin efficace n'est disponible sur le marché vétérinaire. Cependant, même si un certain nombre d'essais vaccinaux ont été effectués à l'aide de souches atténuées en modèles expérimentaux et couronnés de succès avec des souches homologues, ils n'en restent pas moins inefficaces envers des infections avec des souches hétérologues de terrain. (STORDEUR, 2002).

Des chercheurs de l'université du Michigan (États-Unis) ont publié le 18 septembre 2009 dans la revue PLoS Pathogens les résultats prometteurs obtenus sur des souris qui créent une forte résistance immunitaire contre la bactérie *Escherichia coli*.

DEUXIEME PARTIE : Antibiotiques

1. Définition et origine des antibiotiques :

La découverte revient au Dr Fleming en 1928 qui observa que ses cultures bactériennes de staphylocoque, dans des boîtes de Pétri, avaient été contaminées par des colonies de moisissures d'un champignon microscopique, le *Penicillium notatum*, et qu'autour des colonies de moisissure, la bactérie ne s'était pas développée. Il émit l'hypothèse qu'une substance sécrétée par le champignon était responsable de ce phénomène et lui donna le nom de pénicilline. Cependant, l'utilisation médicale ne fut découverte qu'en 1939 par le pharmacologiste Howard Florey et le biochimiste Ernst Chain (Woerther et Andremont, 2012).

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 (Courvalinet *al.* 2001). Par la suite, cette notion s'est étendue aux substances semi-synthétiques ou même synthétiques ayant la même fonction (Nauciel et Vildé, 2005). L'antibiotique doit répondre aux critères de la définition de Paul Ehrlich sur la chimiothérapie. Pour ce dernier, une substance chimio-thérapeutique utilisable par voie générale dans le traitement des maladies infectieuses doit être nuisible pour le microorganisme pathogène mais inoffensive pour les cellules de l'hôte. De ce fait, un nombre restreint d'antibiotiques découverts est utilisés en médecine thérapeutique (Walsh, 2003).

2. Mode d'action :

Pour pouvoir être utilisable en pratique clinique, un antibiotique doit se caractériser par une action spécifique sur les germes visés sans perturber le fonctionnement des cellules eucaryotes (hôte). Un antibiotique devra donc idéalement affecter une voie métabolique absente ou peu active chez les eucaryotes mais essentielle aux procaryotes, ou atteindre une cible spécifique aux procaryotes. (Françoise Van Bambeke, 2007/ 2008)

Les antibiotiques actuels peuvent se diviser en 5 groupes :

2.1. Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne :

Les cellules eucaryotes animales ne possèdent pas de paroi. Les bactéries par contre sont entourées d'une coque en peptidoglycan, polymère de sucres réticulé par des ponts de nature

peptidique. Plusieurs classes d'antibiotiques prennent pour cible des enzymes intervenant dans la synthèse de cette paroi. Dans cette catégorie, nous trouvons

- les β -lactames, qui inhibent la transpeptidase intervenant dans la synthèse de la paroi.
- les glycopeptides, qui se lient à un intermédiaire de synthèse.
- quelques molécules d'intérêt mineur (fosfomycine, cyclosérine, bacitracine, acide fusidique, polymyxine et, dans une certaine mesure, la néomycine). (Françoise Van Bambeke, 2007/ 2008)

2.2. Antibiotiques actifs sur la synthèse protéique :

Les ribosomes procaryotes ne sont pas constitués des mêmes protéines que les ribosomes eucaryotes, et ont d'ailleurs des coefficients de sédimentation différents [70S pour les ribosomes procaryotes (50S pour la sous-unité lourde et 30S pour la sous-unité légère) et 80S pour les ribosomes eucaryotes (60S pour la sous-unité lourde et 40S pour la sous-unité légère)]. Il existe des inhibiteurs :

- de la sous-unité 50S, qui empêchent la fixation d'un nouvel acide aminé sur la chaîne en croissance (phénicolés) ou le transfert de la chaîne en croissance du site A vers le site P (macrolides, lincosamides, streptogramines).
- de la sous-unité 30S, qui empêchent ou perturbent la liaison des aminoacyl-ARNt aux ribosomes (tétracyclines, aminoglycosides; (Françoise Van Bambeke, 2007/ 2008).

2.3. Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs Précurseurs :

On distinguera les antibiotiques actifs d'une part sur la synthèse des ARN et d'autre part, sur la synthèse des ADN ou de leurs précurseurs.

- Les inhibiteurs de l'ARN polymérase sont représentés par la classe des ansamycines, tandis que les inhibiteurs de l'ADN-gyrase regroupent les quinolones. Ces 2 familles d'antibiotiques doivent leur spécificité d'action aux différences qui existent entre les enzymes procaryotes et eucaryotes et qui permettent la reconnaissance spécifique d'un type de cible exclusivement.
- Les sulfamidés agissent sur la synthèse de l'acide folique, un cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques à incorporer dans les acides nucléiques. Leur spécificité d'action provient du fait que les eucaryotes ne synthétisent pas d'acide folique.

- Les diaminopyridines inhibent la réduction de l'acide folique en tirant parti de la différence de sensibilité de la dihydrofolate réductase bactérienne par comparaison avec l'enzyme des cellules eucaryotes. (Françoise Van Bambeke, 2007/ 2008)

2.4. Antibiotiques inhibiteurs de voies métaboliques :

Chez les procaryotes, le métabolisme procède de voies très variées car ils ont acquis une capacité d'adaptation à la vie dans des milieux nutritifs et des conditions de survie très différents des eucaryotes. Malgré ce fait, le nombre de molécules d'antibiotiques agissant à ce niveau et *utilisables en clinique* est très réduit. (Françoise Van Bambeke, 2007/ 2008)

2.5. Antibiotiques anti-anaérobies :

Certaines bactéries sont capables de vivre en anaérobie en utilisant des voies d'oxydo-réduction indépendantes de l'oxygène, et peuvent atteindre des niveaux de potentiel rédox nettement plus bas que chez les eucaryotes. Ceci permet l'activation métabolique spécifique de certaines molécules, comme les nitroimidazoles, et leur confère un effet particulier sur ces organismes (et d'autres parasites anaérobies). (Françoise Van Bambeke, 2007/ 2008).

3 .Critères de Classification :

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

3.1 Origine : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)

3.2 Mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques

3.3 Spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).

3.4 Nature chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse.

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.) (MOHAMMEDI, 2001).

Some clinically important antibiotics			
Antibiotic	Producer organism	Activity	Site or mode of action
Penicillin	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Gram-positive bacteria	Wall synthesis
Cephalosporin	<i>Cephalosporium acremonium</i>	Broad spectrum	Wall synthesis
Griseofulvin	<i>Penicillium griseofulvum</i>	Dermatophytic fungi	Microtubules
Bacitracin	<i>Bacillus subtilis</i>	Gram-positive bacteria	Wall synthesis
Polymyxin B	<i>Bacillus polymyxa</i>	Gram-negative bacteria	Cell membrane
Amphotericin B	<i>Streptomyces nodosus</i>	Fungi	Cell membrane
Erythromycin	<i>Streptomyces erythreus</i>	Gram-positive bacteria	Protein synthesis
Neomycin	<i>Streptomyces fradiae</i>	Broad spectrum	Protein synthesis
Streptomycin	<i>Streptomyces griseus</i>	Gram-negative bacteria	Protein synthesis
Tetracycline	<i>Streptomyces rimosus</i>	Broad spectrum	Protein synthesis
Vancomycin	<i>Streptomyces orientalis</i>	Gram-positive bacteria	Protein synthesis
Gentamicin	<i>Micromonospora purpurea</i>	Broad spectrum	Protein synthesis
Rifamycin	<i>Streptomyces mediterranei</i>	Tuberculosis	Protein synthesis

Figure 03 : représente les différents antibiotiques et leurs organismes producteurs.

TROISIEME PARTIE : La résistance aux antibiotiques

Lorsqu'une population de bactéries est soumise à l'action d'un antibiotique dans son milieu, elle subit une pression de sélection, qui favorise les cellules qui sont les mieux capables de résister à l'effet de ces molécules. Petit à petit, l'émergence de modifications génétiques permettant un niveau de résistance plus élevé se trouve ainsi sélectionnée. (Stephen et Palumbi, 2001).

En fait, une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre *in vivo* à la suite d'un traitement. (Murthy, 2001).

1. Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance :

Les principaux facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance bactérienne sont présentés dans le tableau numéro 4 (Murthy, 2001) (Rybak, 2004).

Tableau 04 : principaux facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance bactérienne (Murthy, 2001) (Rybak, 2004) .

Facteurs	Exemples (liste non exhaustive)
Émergence de la résistance	Usage abusif d'antibiotiques; Gravité accrue de l'état des malades hospitalisés; Manque d'observance; Durée trop courte ou dose sous thérapeutique; Diagnostic non confirmé d'infection bactérienne; Utilisation inadéquate d'antibiotiques dans les pays en voie de développement.
Propagation des souches résistantes	Mesures d'hygiène inadéquates dans les hôpitaux; Non-respect des directives de lutte contre les infections; Promiscuité des patients hospitalisés; Réduction du personnel infirmier et de soutien; Déplacements accrus des patients (transferts de patients colonisés ou infectés entre hôpitaux et milieu communautaire) ; Voyages internationaux.
Utilisation d'antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire	Animaux destinés à la consommation; Agriculture et aquaculture.
Utilisation d'antiseptiques et de Désinfectants	Agents antibactériens dans les produits d'entretien ménager, le dentifrice, les pastilles contre le mal de gorge, les savons, etc.

2. Types de résistance :

2.1 Résistance naturelle (ou intrinsèque) :

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie.

La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce.

Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien.

Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du *Pseudomonas* aux macrolides ou des bactéries à gram négatif à la vancomycine est naturelle. (Mandell, 2009)(Lewis, 2009) (Yamashita, 2000).

2.2 Résistance acquise :

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques.

Cette résistance est souvent instable.

Ces changements peuvent être de deux types: soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes d'un autre micro-organisme (Mandell, 2009)(Lewis, 2009) (Yamashita, 2000).

3. Mécanismes :

Il existe quatre principaux mécanismes par lesquels les micro-organismes développent de la résistance.

3.1 Inhibition enzymatique :

Le micro-organisme produit une enzyme qui détruit ou inactive l'antibiotique. La production enzymatique peut être induite par un facteur externe (un autre antibiotique) ou constante (non affectée par stimuli externes).

On appelle inductible une résistance qui se produit à la suite d'une exposition à un agent d'une classe pharmacologique donnée et constitutive lorsque les gènes à l'origine de la résistance s'expriment en permanence, même en l'absence de tout antibiotique. (Mandell, 2009) (Lewis, 2009) (Yamashita, 2000).

3.2 Réduction de la perméabilité cellulaire :

Une altération des porines dans la paroi des bactéries à gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action.

Cette forme de résistance s'exerce généralement à l'endroit de plusieurs antibiotiques appartenant à plus d'une classe, étant donné que de nombreux médicaments différents peuvent emprunter la même porine.

D'autre part, la résistance est spécifique quand un seul agent emprunte cette porine. Par exemple, la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénem illustre la résistance spécifique causée par la perte d'une porine propre aux carbapénèmes.

Les mutations des porines joueraient un rôle important dans l'émergence d'une résistance, particulièrement à la suite d'une réduction du calibre des canaux ou du nombre de porines. L'imperméabilité liée aux porines s'associe souvent à la synthèse de β -lactamases pour conférer une résistance à la bactérie. (Knothe, 1983) (Pitout, 2004).

3.3 Altération (ou modification) des sites de liaison :

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

Voici quelques exemples de ce mécanisme de résistance:

- a. Altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) aussi connues sous PBP (Penicillin Binding Protein)
- b. Altération des sites de liaison ribosomaux
- c. Altération de l'ADN-gyrase et de la topoisomérase
- d. Altération des précurseurs cibles de la paroi cellulaire bactérienne
- e. Altération des enzymes cibles.

(Mandell, 2009) (Yamashita, 2000) (Pitout, 2004)

3.4 Pompes (transporteurs) à efflux :

L'antibiotique ne peut atteindre son site d'action à cause du pompage actif de l'antibiotique à l'extérieur de la bactérie (efflux).

Les transporteurs d'efflux de plusieurs médicaments sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de nombreux agents antibactériens.

Ces pompes ont besoin d'énergie. L'exposition aux antibiotiques favorise une surexpression par mutation de transporteurs, entraînant une hausse de la résistance bactérienne.

Parmi les bactéries d'importance clinique munies d'une pompe à efflux comme mécanisme de résistance, on trouve *E. coli*, *Shigella* et *S. aureus* (Mandell, 2009) (Yamashita, 2000) (Pitout, 2004).

4. Résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* :

E. coli est par ordre de fréquence la bactérie la plus souvent isolée de prélèvements cliniques à visée diagnostique, aussi bien en milieu hospitalier que dans la communauté (Soussy, 2000). C'est un germe naturellement sensible aux antibiotiques. Cependant, face à l'utilisation intensive de ces molécules, les *E. coli* risquent de devenir, sous les effets conjugués d'antibiotiques et de transfert de gènes de résistance, de plus en plus résistantes (Adjidé, 2006). En effet, l'émergence des souches d'*E. Coli* productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE), qui présentent souvent des résistances associées aux aminosides et aux quinolones, est devenue une préoccupation majeure pour la santé publique à l'échelle mondiale (Garau, 1999) (Doit, 2010) (Smaoui, 2015).

4.1 Résistance aux β -lactamines :

Les mécanismes de résistance déployés par les entérobactéries, y compris *E. coli*, à l'encontre des β -lactamines sont de quatre ordres, parfois plus ou moins associés : défaut de pénétration par imperméabilité de la paroi bactérienne, excrétion de la molécule antibiotique, défaut d'affinité pour la cible (PLP), mais la production d'enzymes inactivatrices, les β -lactamases, est le principal mécanisme (Bonnet, 2006).

Les β -lactamases sont des enzymes capables d'ouvrir le cycle β -lactame en créant un intermédiaire acylenzyme instable, menant au final à la perte d'un groupement carboxyle (Ruppé, 2010). Plus de 1300 β -lactamases ont été identifiées (Bush, 2013). Ces enzymes sont classées en fonction de leur spectre d'activité enzymatique (Bush J. G., 1995) (Bush., 2010) ou de leur séquence en acides aminés (Ambler, 1980). La classification structurale d'Ambler distingue quatre classes. La classe A correspond aux « pénicillinases » inhibées par l'acide clavulanique, la classe B correspond aux carbapénémases inhibées par l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), la classe C regroupe les « céphalosporinases » non inhibées par l'acide clavulanique et la classe D correspond aux oxacillinases de sensibilité variable à l'acide clavulanique. Les enzymes

des classes A, C et D sont des serine-enzymes. En revanche, les enzymes de la classe B sont des métallo- β -lactamases comportant deux atomes de zinc dans leur site actif.

4.2 Résistance aux aminosides :

La modification enzymatique de l'antibiotique est le mécanisme de résistance aux aminosides le plus fréquemment observé chez les entérobactéries (Shakil, 2008). Trois familles d'enzymes modifiant les aminosides (AME) ont été décrites et classées en fonction de la réaction qu'elles catalysent : acétylation d'un groupement aminé (AAC: aminosides N-acétyltransférases), phosphorylation (APH: aminosides O-phosphotransférases) ou nucléotidylation (ANT: aminosides O-nucléotidyltransférases) d'un groupement hydroxyle (Lambert, 2006). Les gènes codant les AME sont généralement trouvés en tant que gènes cassettes dans des intégrons, sur des plasmides ou des transposons, souvent associés aux gènes de résistance aux β -lactamines et aux quinolones (Ramirez, 2010).

Un autre mécanisme, non enzymatique, conférant la résistance aux aminosides a été décrit chez *E. coli*, il s'agit de la diminution de la concentration intra-cytoplasmique en aminosides (Magnet, 2005). Ce mécanisme est du généralement à une exportation active de l'antibiotique par des pompes d'efflux. Ces systèmes expulsent des antibiotiques dans le milieu extérieur, en utilisant l'énergie du gradient électrochimique de la membrane cytoplasmique (Cattoir, 2004).

Plus récemment, un autre mécanisme de résistance aux aminosides a été décrit. Il s'agit de la méthylation des nucléotides spécifiques, situés au niveau du site A de l'ARNr 16S, site de liaison des aminosides sur le ribosome, ce qui empêche la liaison de ces antibiotiques à la sous-unité 30S ribosomale (Doi, 2007). Ce mécanisme confère une résistance de haut niveau à tous les aminosides cliniquement importants, à l'exception de la streptomycine (Krishnappa, 2012)

4.3 Résistance aux quinolones :

Depuis leur mise sur le marché, l'incidence de la résistance aux quinolones ne cesse de croître chez les entérobactéries. Cette résistance fait intervenir différents mécanismes chromosomiques et plasmidiques (Cattoir, 2012).

La résistance chromosomique aux quinolones chez les entérobactéries, résulte essentiellement des mutations ponctuelles au niveau des gènes codant les cibles de ces molécules, les sous-unités A et B de l'ADN gyrase (GyrA et GyrB) et les sous-unités C et E de la topoisomérase IV (ParC et ParE) (Drlica, 1997). Chez *E. coli*, ces mutations sont principalement localisées dans de courtes

régions conservées, situées entre les acides aminés 67 et 106 du gène *gyrA* et les acides aminés 63 et 102 du gène *parC*, appelées QRDR (Quinolone Resistance Determining Region) (Yoshida, 1990) (Wohlkonig, 2010).

La résistance chromosomique aux quinolones peut également être associée à la diminution de la perméabilité membranaire et/ou à la surexpression des systèmes d'efflux (Mitsuyama, 1992) (Putman, 2000). Chez *E. coli*, l'altération des protéines de la membrane externe (porines) comme OmpF et OmpC a déjà été observée. Ces porines sont nécessaires à la diffusion des quinolones dans le cytoplasme (Chapman, 1988).

Il est à noter que quel que soit le mécanisme réduisant la concentration intracellulaire en antibiotique, il ne confère qu'une résistance de bas niveau aux quinolones mais il peut se cumuler à d'autres mécanismes et conférer une résistance de haut niveau (Mérens, 2010).

Le support de la résistance aux quinolones était supposé être uniquement chromosomique, jusqu'en 1998 où Martinez-Martinez et ses collaborateurs, ont décrit pour la première fois une souche de *Klebsiella pneumoniae* dont le support de la résistance aux quinolones est un plasmide transférable (PMQR, « Plasmid Mediated Quinolone Resistance ») (Martinez-Martinez, 1998). Le déterminant génétique de cette résistance est le gène « *qnr* ». Les protéines Qnr s'intercalent entre les topoisomérases et les quinolones, bloquant ainsi leur activité (Tran, 2002) (Tran, 2005).

Un autre mécanisme de résistance plasmidique aux quinolones a été décrit chez des souches d'*E. coli* isolées en Chine. Il s'agit d'une inactivation de ces antibiotiques par acétylation. Le déterminant de cette résistance est le gène *aac(6')-Ib-cr* (Robicsek, 2006).

Des nouveaux déterminants plasmidiques de résistance aux quinolones ont été identifiés, il s'agit des gènes *qepA* et *oqxAB*, codant des pompes d'efflux. *qepA* a été décrit pour la première fois, en 2007, chez deux souches cliniques d'*E. coli* isolées au Japon et en Belgique (Yamane, 2007) (Perichon, 2007). La prévalence des souches cliniques ayant la pompe d'efflux QepA est assez faible (Yanat, 2016).

4.4 Résistance aux cyclines, Triméthoprimine, Sulfamides, et Macrolides (Mcdermott, 2003) :

Tableau 05 : la résistance aux cyclines, Triméthoprimine, Sulfamides, et Macrolides chez *Escherichia coli* (Mcdermott, 2003).

Familles d'antibiotiques	Mécanisme de Résistance	Protéines codées	Gènes de résistance
Tétracyclines	1/ Efflux actif 2/ Protéines des protéines ribosomales(RPPs) 3/ Inactivation enzymatique	Pas de données	1/ <i>tet(A), tet(B)</i> , 2 <i>otr, tcr</i> (25 au total) 2/ 10 <i>tet&1 otr</i> (RPPs) 3/ 3 <i>tet</i> seulement chez les Gram-
Triméthoprimine	Acquisition d'un gène non-allélique semblable à DHFR situé sur un plasmide pour induire une voie métabolique Alternative	Dihydrofolate réductases alternatives de classe A et B insensibles aux antibiotiques	<i>dfrA1, dfrA5, dfrA7, dfrA12, dfrA14, dfrA17, dfrB1, dfrB2, dfrB3</i>
Sulfamides	Acquisition d'un gène non-allélique semblable à DHPS situé sur un plasmide pour induire une voie métabolique alternative	Dihydroptéroate synthase Alternative	<i>Sul1, sul2, sul3</i>
Macrolides Azithromycine	1-/Méthylases d'ARN pour protéger la cible 2-/ Efflux actif 3-/Inactivation enzymatique	1-/Méthylases d'ARN 2-/Pompes à efflux 3-/Estérasés 4/Phosphotransférases codées par un plasmide	1-/ <i>erm(A), erm(B), erm(C)</i> 2-/ <i>msr(A), mef(A)</i> 3-1/ <i>ere(A), ere(B)</i> 3-2/ <i>mph(A), mph(B), mph(D)</i>

ETUDE EXPERIMENTALE

1. Objectifs de l'étude :

L'objectif de notre étude consiste à l'isolement, l'identification des souches d'*Escherichia coli* chez les bovins à partir des matières fécales de bovins et mettre en évidence l'antibioresistances des souches d'*E coli* dans une région précise vis-à-vis de 12 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.

La commune de Freha est composée de 24 villages.

3. Matériel et Méthodes :

Tout le matériel nécessaire au bon déroulement de ce travail était disponible au niveau du Laboratoire de Recherches de l'Institut Science Vétérinaires de Blida 1.

Notre étude a été menée durant une période de 6 mois de septembre 2018 jusqu'à février 2019 et s'est déroulée en deux étapes :

3.1. Premier Etape :

Sur le terrain :

3.1.1. L'échantillonnage :

Notre étude a porté sur la commune de Freha

Notre étude a porté sur 12 villages des 24 villages que comporte cette commune à savoir : Freha, El madjen, Adjarar, Tala Tegana, Ikharban, Melaghni, Taguercift, Tikharbine, Timerzouga, El Hemeri, Kahra, Guendoul.

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.

3.1.2. Prélèvements :

Les prélèvements sont porté sur des échantillons de matières fécales ces prélèvements ont été effectués au cours de plusieurs visites dans les régions concernées par l'étude, en moyenne chaque 15 a 20 jours nous programmions une sortie à destination d'une ou deux régions au maximum.

Devant la difficulté d'effectuer un échantillonnage aléatoire vu l'absence de moyens logistiques (impossibilité d'atteindre tous les élevages tirés au sort), de l'absence d'une base de données précise sur la taille des effectifs (vente d'animaux) et la localisation exacte des élevages (surtout les élevages familiaux), de plus le risque de refus de certains propriétaires constitue un réel problème.

Nous nous sommes résignés à faire un échantillonnage à choix raisonné, dans lequel nous contactons un à deux éleveurs qui étaient favorables à la participation à notre étude, puis ces derniers se chargent de nous orienter vers d'autres élevages.

Une fois à l'intérieur des élevages les animaux prélevés sont les animaux accessibles (attachés) et ceux que l'éleveur nous permettait de prélever.

Au minimum 50g de matière fécale directement du rectum était prélevé par animal dans un sac à prélèvement stérile, sur lesquelles sont collés des étiquètes ou le sexe et l'âge de l'animal est marqué, puis ces prélèvements sont acheminés au laboratoire sous froid et analysés après un délai maximal de 48h après leur récolte.

3.2. Deuxième étape :

Au laboratoire :

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

Au niveau de ce dernier on a 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 tamponnée qui contient essentiellement des peptones tryptiques source d'azote destinée à revivifier les cellules bactériennes.

En milieu aseptisé et sous bec bensen, 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 tamponnée 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 MacConkey 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* Deviennent rose sur ce milieu.

La préparation de milieu se fait comme suite :

Mettre en suspension 50,0 g de milieu déshydraté (BK050) 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.

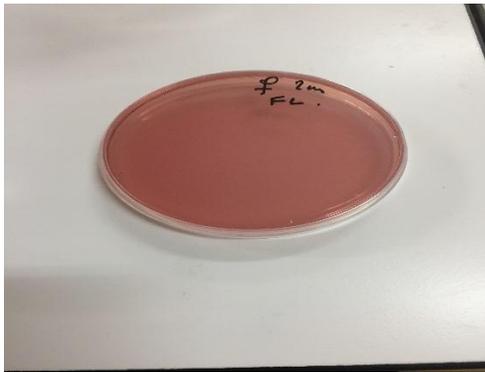


Figure 04 : Boite pétri avec gélose MacConkey (photos personnelles).

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.

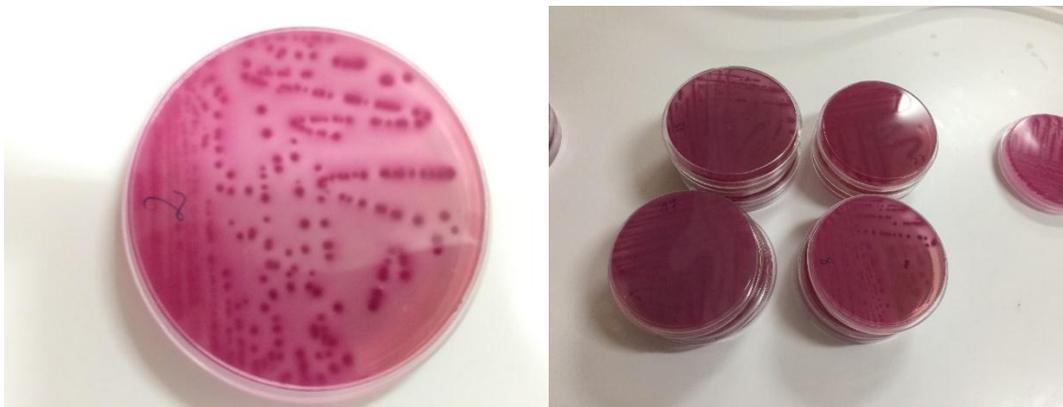


Figure 05 : Boite pétri avec gélose MacConkey avec apparitions des colonies rose après incubation (photos personnelles).



Figure 06 : bec bunsen (photo personnelle).

3.2.2.3. Purification :

Les colonies caractéristiques d *E Coli*. (Généralement trois colonies) sont prélevées de chaque boîte du milieu sélectif MacConkey puis purifiées.

3.2.2.4. Identification :

Chaque culture pure a fait l'objet d'une observation de la mobilité selon la méthode (état frais), puis d'une coloration de Gram, et, par la suite a été identifiée grâce à une Galerie biochimique PUIS UNE galerie API 20 E (*entérobacteriaceae*).

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 et mannitol mobilité) biochimiques d'orientation, puis soumise à une confirmation avec une galerie miniaturisée API 20E.

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.

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



Figure 07 : galerie API 20E
(Photos personnelles).



Figure 08 : Préparation de l'inoculum
(Photos personnelles).

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. Ensemencement

3. Ensemencement

L'ensemencement se fait :

- Par inondation : l'inondation se fait avec 5 ml de la suspension sur la gélose de Mueller Hinton, laissée en contact 30 secondes puis mise à sécher 15 minutes à 37°C.
- Par écouvillonnage (méthode de Kirby) : le milieu est ensemencé par stries très serrées en 3 passages en faisant pivoter 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 pour la méthode par diffusion pour les bactéries de croissance rapide et 2 à 3 jours pour les espèces de croissance difficile. La zone d'inhibition circulaire est mesurée par le diamètre en millimètres selon divers moyens (règle, compas 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 12 antibiotiques ont été testés, parmi les plus utilisés en élevage bovin , et selon les listes d'antibiotiques recommandées pour la surveillance des pathogènes vétérinaires, ce sont : Enrofloxaxine, sulfamide ,cefalexine, colistine ,kanamicine , sulfaméthoxazole-triméthoprime, TETRACYCLINE ,SSS,bacitracine, amoxiciline, amoxicilline+acide clavulanique , FLUMIQUINE.



Figure 09 : Boite pétri avec gélose

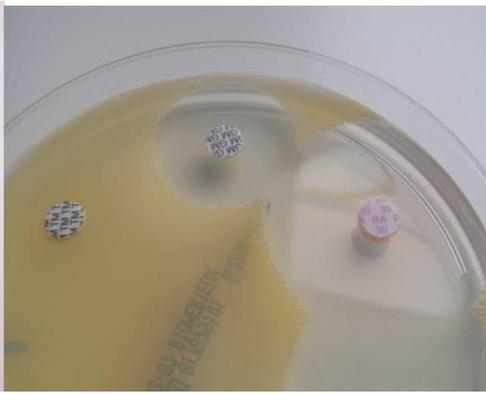


Figure 10 : Boite pétri avec gélose

Mueller Hinton (Photos personnelles). Mueller Hinton les disques d'antibiotiques (Photos personnelles).

4. RESULTATS :

Au total, 50 prélèvements ont été réalisés à partir de matières fécales provenant des déférents bovins. Sur les 50 prélèvements suspects, 36 ont présenté une culture positive envers *Escherichia coli* et 14 ont présenté une culture négative (Figure)

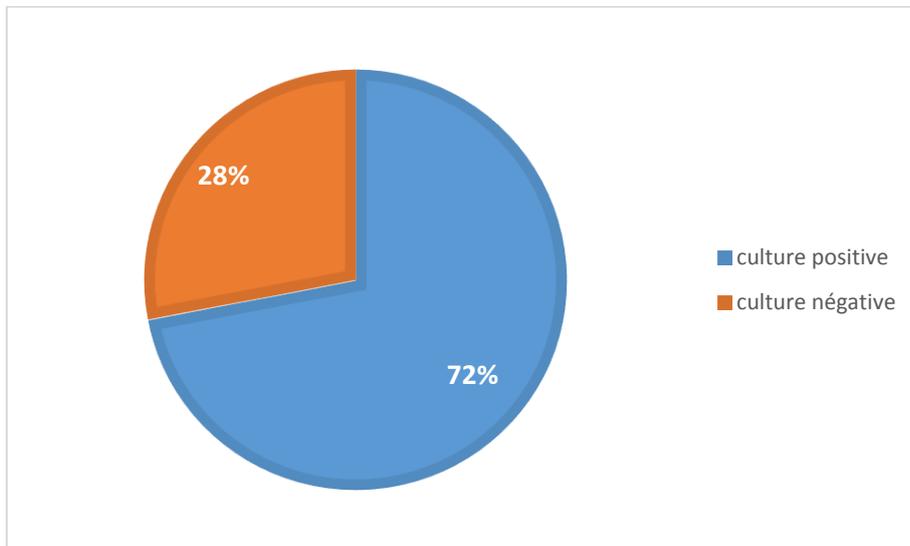


Figure 11 : pourcentage de culture positive et de culture négative.

4.1. Distribution des prélèvements en fonction du sexe et d'âge :

Les prélèvements sont pratiqués au hasard chez des sujets d'âges et de sexe différent :

a. En fonction du sexe :

Tableau 06: Nombre de prélèvements positifs par ordre de sexe.

Sexe	Nombre
femelle	28
Male	8

Le nombre de prélèvements positifs obtenus est plus élevé chez les femelles

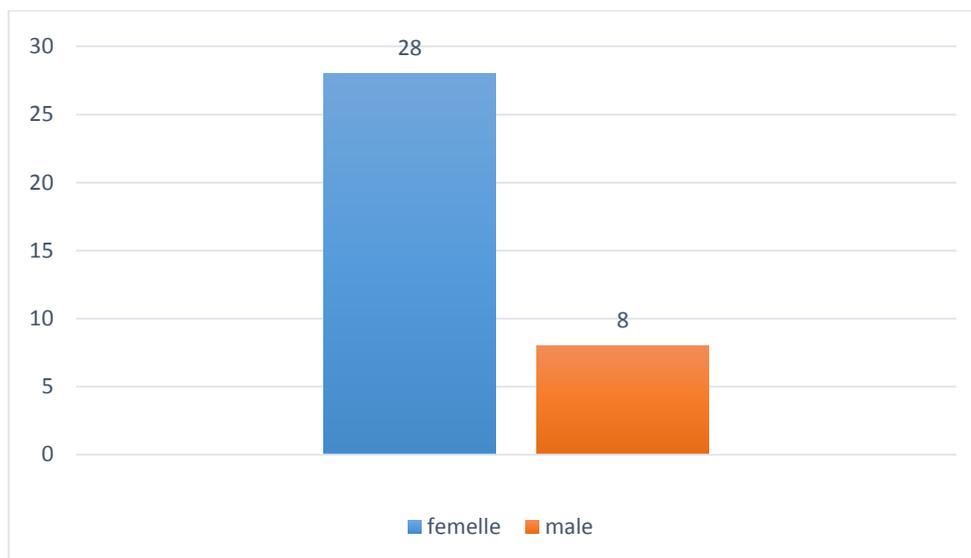


Figure 12 : distribution des prélèvements positifs en fonction de sexe.

b. En fonction de l'âge :

Tableau 07: Nombre de prélèvements positifs par tranche d'âge.

Tranche d'âge	- 1 an	1 ans - 2 ans	+ 2 ans
Nombre	1	13	22

Le nombre de prélèvements positif par tranche d'âge est réparti inégalement avec un nombre plus élevé pour la tranche d'âge (+2 ans) suivi par la tranche d'âge (1 ans - 2 ans) et un nombre négligeable pour la tranche d'âge (-1 ans).

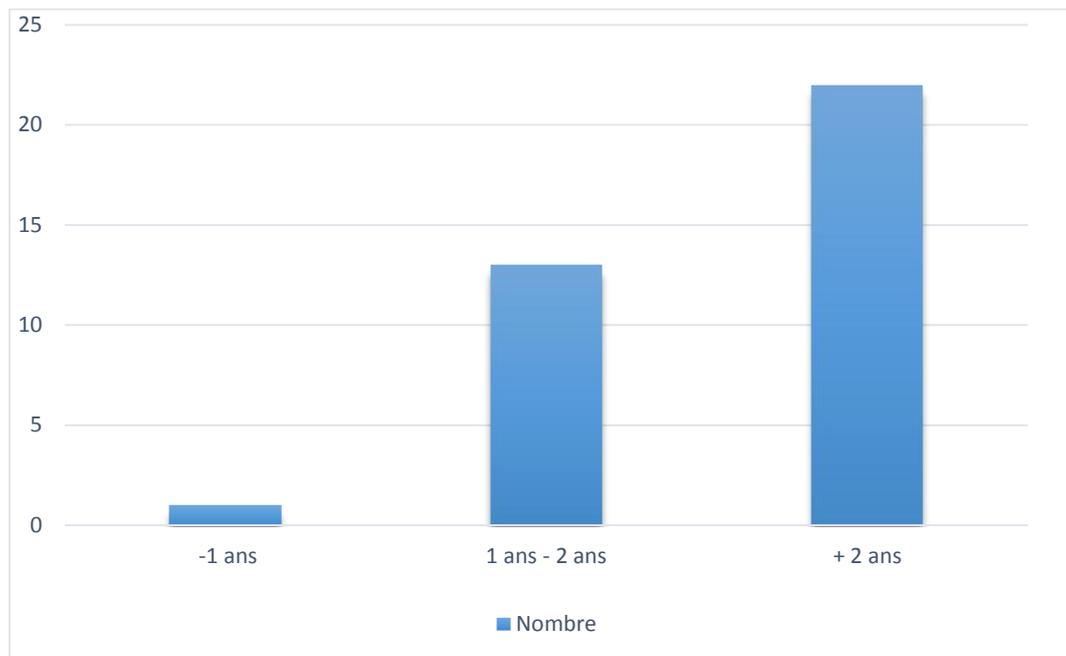


Figure 13 : distribution des prélèvements positifs en fonction de l'âge.

4.2. Examen bactériologique :

A partir des 50 prélèvements réalisés, 36 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 roses) (lactose +), comme le montre la photo ci-dessous :

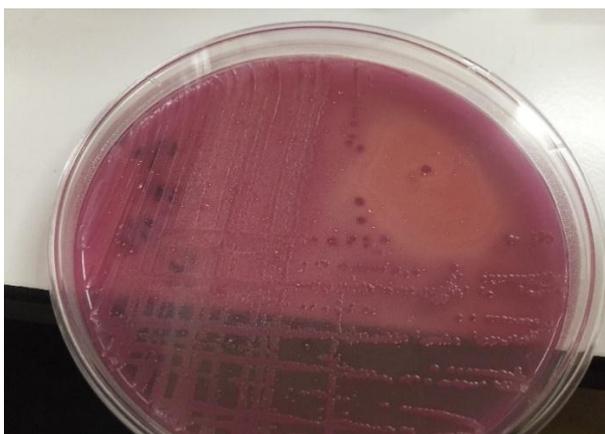


Figure 14 : Boite pétri avec gélose MacConkey avec apparitions des colonies rose après incubation (photos personnelles).

L'identification est basée sur l'observation microscopique de bacilles fins mobiles, dont la coloration de Gram est négative.

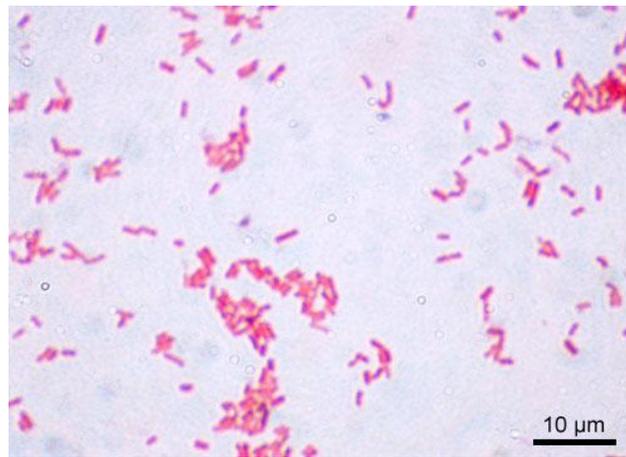


Figure 15 : observation au microscope optique d'*E. Coli*. (Gr.10×100)

Le test d'orientation rapide, permet d'identifier les *Escherichia coli* en recherchant le profil biochimique suivant : oxydase -, H₂S -, lactose +, glucose +, saccharose +, indole + et uréase.

Les souches identifiées comme *E. coli* présentent le phénotype ci-dessous ONPG +, ADH-, LDC+, ODC+, Citrate-, H₂S-, Urée -, TDA -, Indole +, VP - et la plupart des sucres sont hydrolysés, comme le montre la figure de la plaque Api 20^E.

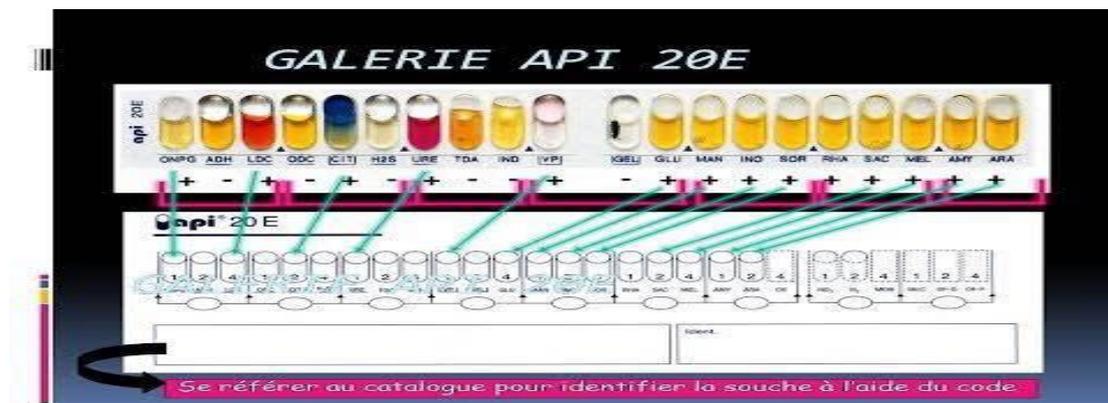


Figure 16: profil biochimique sur galerie API 20E d'*E. Coli*.

4.3. Résultats des antibiogrammes :

L'antibiogramme a été réalisé selon les normes de l'OMS. La fréquence de résistance de 36 souches, vis-à-vis de 12 antibiotiques est présentée dans le tableau ci-après :

Tableau 08 : résultats des antibiogrammes.

Antibiotique	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Enrofloxaxine	81%	13,89%	5,56%
sulfamide	66,67%	5,56%	27,78%
cefalexine	83,33%	2,78%	5,56%
colistine	100,00%	0,00%	0,00%
kanamicine	83,33%	0,00%	16,67%
Sxt	75,00%	0,00%	25,00%
TETRACYCLINE	16,67%	22,22%	61,11%
SSS	75,00%	2,78%	22,22%
bacitracine	61,11%	0,00%	36,11%
amoxiciline	52,78%	2,78%	44,44%
AMC	52,78%	2,78%	44,44%
FLUMIQUINE	63,89%	0,00%	33,33%

Ces résultats sont représentés sous forme d'histogramme (figure18)

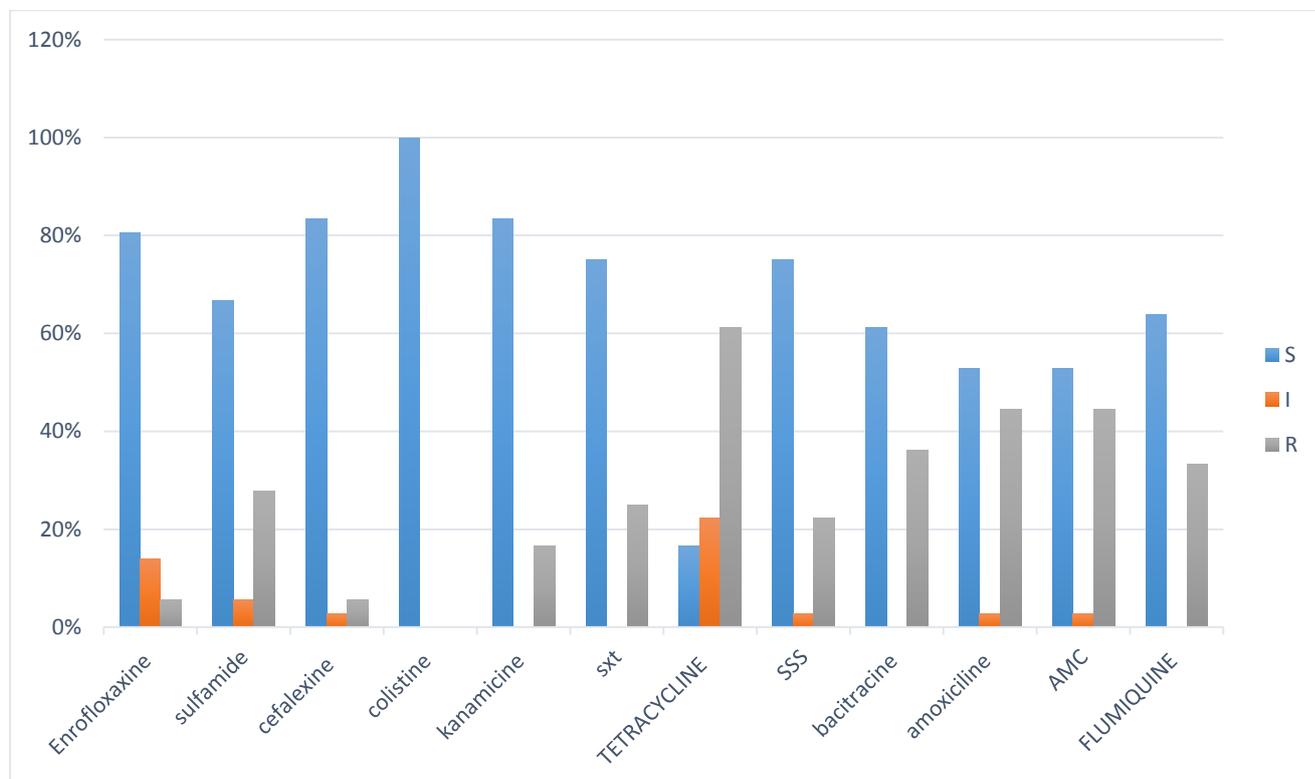


Figure 17 : sensibilité globale des souches vis-à-vis des antibiotiques testés.

AMC : amoxicilline+acide clavulanique, SXT : sulfaméthoxazole-triméthoprime,

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

Groupe 1 : comprend des antibiotiques pour les quels des taux élevés de résistance sont observés, il s'agit de TETRACYCLINE 61,11%.

Groupe 2 : comprend des antibiotiques pour lesquels des taux moyens de résistance sont observés, SSS 22,22%, sulfamide 27,78%, sxt25,00%,FLUMIQUINE 33,33%,bacitracine 36,11%,amoxiciline44,44%, AMC 44,44%.

Groupe 3 : comprend des antibiotiques pour lesquels des taux bas de résistance sont observés: kanamicine 16,67%, Enrofloxaxine5,56%, cefalexine5,56%, La colistine 0,00%.

LA colistine ET l'antibiotique pour lequel, il n'y avait pas de résistances.

L'absence de résistance ou la faible résistance envers la cefalexine et La colistine s'explique par le fait, que ces deux molécules ne sont pas ou peu utilisées.

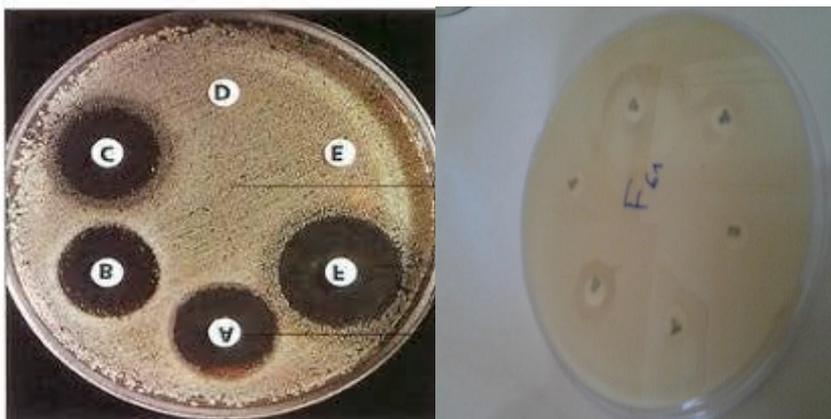


Photo 18 : exemple d'antibiogramme sur gélose Mueller-Hinton.

Tableau 09 : Fréquence des multi résistances d'*E. Coli*.

Nombre d'antibiotiques	Pourcentage des souches résistantes
2	50%
3	33.33%
4	25%
5	25%
6	16.16%
7	8.33%

La multi résistance apparait comme un véritable problème, car 50% des souches sont résistantes à au moins 2 antibiotiques et 25% des souches sont résistants à 5 antibiotiques. Ces résultats sont représentés sous forme d'histogramme (figure19).

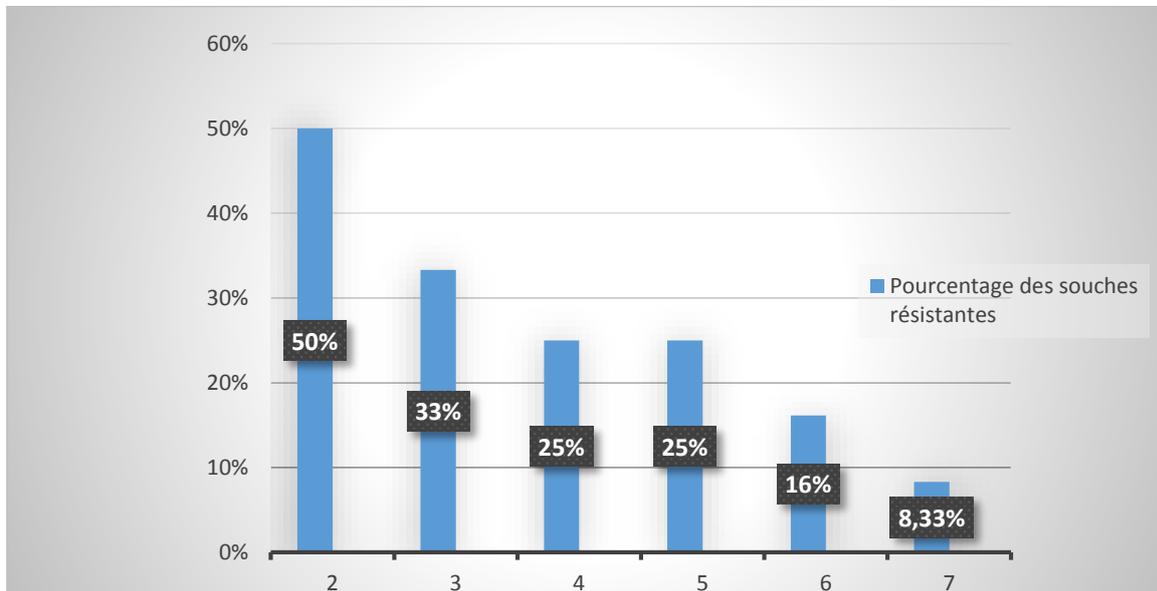


Figure 19 : pourcentage fréquence des multirésistances d'*E. Coli*.

DISCUSSION

Sur les 50 prélèvements qu'on a réalisés à partir de matières fécales provenant des déféquants bovins, 36 ont présenté une culture positive envers *Escherichia coli* et 14 ont présenté une culture négative.

Le nombre de prélèvements positifs obtenus est plus élevé chez les femelles que chez les mâles cela est dû aux nombres de vaches touchées par cette bactérie et qui cause surtout des mammites, Le syndrome diarrhéique du veau nouveau-né et d'une septicémie chez les veaux ainsi que le nombre de prélèvements élevé pour les vaches.

Le nombre de prélèvements positifs est réparti inégalement en fonction de l'âge avec un nombre plus élevé pour la tranche d'âge (+2 ans) suivi par la tranche d'âge (1 ans - 2 ans) et un nombre négligeable pour la tranche d'âge (-1 ans) ces résultats sont dus aux nombres réduits de sujets de moins de 1 an rencontrés sur le terrain.

L'antibiorésistance :

Les taux de résistance ou de sensibilité à un antibiotique, (ou pourcentage de souches résistantes à cet antibiotique) ou de sensibilité à un antibiotique sont très variables d'une molécule à une autre.

Les résistances individuelles seront discutées par familles d'antibiotiques :

➤ **Tétracyclines :**

Dans nos résultats, l'oxytétracycline étant l'antibiotique qui présente le plus de résistances (61,11%). Ceci concorde avec les résultats de Akam dans la région de la MITIDJA (ALGERIE) (Akam, 2007), Ramisse (Ramisse, 1980) et FASSI-FERHI au Maroc (FASSI-FERHI, 1988).

Car c'est un antibiotique couramment employé et d'une manière abusive. Ajouté à cela, la mauvaise manipulation, car le vétérinaire laisse, parfois, à l'éleveur le soin d'administrer lui-même le médicament ou parfois même l'éleveur achète, directement, l'antibiotique sans l'avis du médecin. L'administration d'un traitement par l'éleveur, peut conduire à un mauvais suivi de la prescription du vétérinaire. La dose à administrer dépend souvent du poids de l'animal : il est évident que tous les éleveurs ne disposent pas d'une balance dans leur stabulation, leur permettant de peser l'animal à traiter avant d'entamer un traitement antibiotique, ce qui peut conduire à des erreurs d'appréciation du poids et donc à des surdosages ou plus fréquemment

des sous-dosages. Le sous-dosage est notamment à l'origine de la sélection de germes résistants aux antibiotiques (AFSSA, 2006) cité par Chatellet (Chatellet., 2007)

La doxycycline, étant un antibiotique récemment introduit sur le marché algérien, et pourtant, sa résistance chevauche avec celle des anciennes molécules, particulièrement l'oxytétracycline, dont il est de la même famille, ceci suppose une résistance croisée avec l'oxytétracycline (John G. Bartlett, 1975).

➤ β -lactamines :

Le taux de résistance retrouvé dans notre étude envers l'ampicilline (44,44%) ainsi que le taux de résistance envers l'ampicilline est également (44,44%) dans notre étude c'est résultats sont moyennes elle est plus faible que celle rapportée par Akam dans la région de la MITIDJA (ALGERIE) (Akam, 2007), Ramisse (Ramisse, 1980) et FASSI-FERHI au Maroc (FASSI-FERHI, 1988) mais représente les antibiotique les plus résistants après l'oxytétracycline.

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

➤ Sulfamide-triméthoprimine :

Le taux de résistance des souches de E coli envers l'association sulfamide- triméthoprimine dans notre étude (25,00%) elle est plus faible que celle rapportée par Akam dans la région de la MITIDJA (ALGERIE) (Akam, 2007) Ramisse (Ramisse, 1980) et FASSI-FERHI au Maroc (FASSI-FERHI, 1988). Cette association est très utilisée en médecine vétérinaire notamment pour le traitement colibacilloses, ce qui pourrait expliquer le taux de résistance.

➤ Quinolones et dérivés :

Le taux de résistance des souches de E coli a FLUMIQUINE est moyenne dans notre étude (33,33%) nous résultats concorde avec les résultats de Ramisse (Ramisse, 1980) et de Martel et al (MARTEL, 1981) qui signalent l'existence d'une montée de la résistance vis-à-vis de cet antibiotique et aussi avec le résultat de Akam dans la région de la MITIDJA (ALGERIE) (Akam, 2007), Qui signale présence une sensibles envers cet antibiotique qui est imputée, à son non

utilisation par les praticiens vétérinaires et de l'emploi le plus souvent d'autres antibiotiques (colistine, gentamicine et l'ampicilline).

Cependant nos résultats montrant une grande sensibilité de E coli envers l'enrofloxacin avec un taux de (81%) ceci concorde avec les résultats De Akam dans la région de la MITIDJA (ALGERIE) (Akam, 2007), Ramisse (Ramisse, 1980) et de Martel (MARTEL, 1981).

➤ Aminoside :

Dans nos résultats Le taux de résistance des souches de E coli à la kanamicine est très faible et représente une grande sensibilité avec un taux de sensibilité de (83,33%) et ceci et les mêmes résultats rapportée par Akam dans la région de la MITIDJA (ALGERIE) (Akam, 2007), Ramisse (Ramisse, 1980) et FASSI-FERHI au Maroc (FASSI-FERHI, 1988) pour la gentamicine qui est un antibiotique appartenant aux aminosides.

➤ Céphalosporines :

Pour la cefalexine est un antibiotique qui appartient au groupe de 1ère génération des céphalosporines elle présente un taux de résistances très faible avec un taux de sensibilité de (83,33%) nous résultats concorde avec les résultats de Hélène Lacroute (Lacroute, 2016) dans cette montre que le taux de résistance à la cefquinone, céphalosporine de quatrième génération, est plus de deux fois supérieur à celui du ceftiofur, céphalosporine de troisième génération.

➤ Polymixines :

La colistine est l'antibiotique qui présente le plus faible taux de résistance (0,00%) c'est des résultats proches de ce rapportée par les études de Akam dans la région de la MITIDJA (ALGERIE) (Akam, 2007), Ramisse (Ramisse, 1980), FASSI-FERHI au Maroc (FASSI-FERHI, 1988) de Hélène Lacroute (Lacroute, 2016).

La résistance des bactéries à Gram négatif à la colistine n'est pas commune et est même exceptionnelle, elle est de type chromosomique, donc la mutation est rare. D'autre part, les études effectuées montrent que cette résistance est adaptative ou phénotypique et réversible : elle correspond à une altération de l'architecture de la paroi bactérienne. En outre elle est d'apparition lente. (MAURE, 1986).

Le faible taux de résistance (absence de résistance dans notre étude) à la colistine ne doit pas masquer l'émergence actuelle, en France et dans de nombreux autres pays, d'une résistance due à un nouveau mécanisme (gène mcr-1) (Webb HE, 2016). Cependant l'Agence Européenne du

Médicament (EMA) ne recommande pas encore d'inclure la colistine dans la liste des antibiotiques critiques (anses.fr/fr/search/site/colistine?iso1=fr&iso2=en.)

Pour la bacitracine on a un taux de sensible de (61,11%).

La fréquence de l'antibiorésistance chez les E. coli d'origine bovine est très élevée.

Les taux de multi résistance sont alarmants, car toutes les souches sont résistantes à au moins 2 antibiotiques, et les résultats retrouvés dans notre étude concordent avec les études réalisées en Algérie et dans le monde par Akam dans la région de la MITIDJA (ALGERIE) (Akam, 2007), Ramisse (Ramisse, 1980) , FASSI-FERHI au Maroc (FASSI-FERHI, 1988), d'Hélène Lacroute (Lacroute, 2016).

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).

Il convient donc de rester prudent quant aux conclusions à tirer de ces analyses. Cependant, des molécules critiques étant concernées, il est essentiel d'adapter les pratiques en matière d'antibiothérapie, afin de limiter le développement de ces résistances. Comme l'ont montré (Kaneene et *al.* (2009), la diminution de l'utilisation préventive d'antibiotique ou du traitement, s'accompagne d'une réduction de la fréquence des multirésistances. Bien que cet effet ne soit pas durable et que d'autres facteurs interviennent, cette réduction constitue une première mesure indispensable.

La non réalisation des antibiogrammes d'orientations, implique la multiplication de ces pratiques et ainsi au développement des gènes de résistance. Elle conduit aussi au phénomène de co-résistance, engendrant le développement de véritables clones résistants à de nombreux antibiotiques.

Les antibiotiques les plus utilisés en médecine vétérinaire forment les antibiotypes les plus importants dans notre étude, ceci, pourrait être responsable des échecs thérapeutique lors de colibacillose, mais pas seulement, car en médecine humaine, les problèmes de résistance posent un énorme problème En effet, les résistances d'E. Coli en milieu hospitalier en 2011 en Algérie,

est de l'ordre de 78.48% envers l'ampicilline et de 52.32% envers sulfaméthoxazole triméthoprim (Rahal et *al*). La flore commensale, joue également un rôle clé, comme accepteur et donneur, dans la transmission des mécanismes de résistance. Une étude réalisée par (YOLANDA et *al*), en Espagne, montre une grande variété de gènes de résistance chez les souches d'*Escherichia coli* multi résistantes et non pathogènes provenant de l'homme, des animaux et des produits de consommation. En plus, l'inclusion de quelques gènes de résistance à des intégrons, constitue un moyen efficace pour la dissémination de l'antibiorésistance. Des changements dans les acides aminés (MarR) et du promoteur (marO) contribuent probablement dans le phénotype de la multirésistance (Yolanda Saenz, 2004). La bactérie *E. coli*, peut transmettre la résistance d'une part, aux autres espèces par transfert de son matériel génétique, et d'autre part, à l'homme via la chaîne alimentaire ou par contact direct, cette dernière voie de transmission concerne surtout les éleveurs, vétérinaires et le personnel des abattoirs Certaines études se sont intéressées à ce transfert de la résistance de l'animal à l'homme, une des premières études est celle de LEVY (LEVY et *al*,1976) qui avait étudié le transfert des plasmides provenant de souches résistantes d'*Escherichia coli* à la famille de l'éleveur et ceci après l'introduction de la tétracycline, une autre étude est celle de JOHNSON (JOHNSON et *al*,2007).

CONCLUSION

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur pour les élevages et à la santé publique 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 (BGN) (Drissi, 2008) (Berrazeg, 2014).

Cette bactérie représente un problème économique majeur, mais également un problème de santé publique et vétérinaire. Du fait de l'émergence de résistance et des souches multi résistantes contre devers antibiotiques et qui peuvent conduire à des impasses thérapeutiques.

Dans notre étude l'antibiogramme montre cette émergence de la résistance contre les antibiotiques avec des taux de résistance élevé et des pourcentages élevé de multi résistantes.

Nous constatons également, dans cette étude, que l'efficacité des antibiotiques décroît au fil du temps, les bactéries additionnent des résistances à diverses familles d'antibiotiques et deviennent des multirésistants.

L'émergence des β -lactamases à spectre élargi constitue un véritable danger rendant les souches qui les portent résistantes à de nombreuses classes d'antibiotiques

Cette monter de résistance et très préoccupante pour les animaux ainsi que a la sante publique et que la direction du pouvoir public ainsi que la direction des vétérinaires, les médecins, les vétérinaires doivent prendre les mesures nécessaires pour lutte contre ce problème mondiale il ne suffit pas de réduire quantitativement la consommation d'antibiotiques mais d'en améliorer qualitativement leur utilisation.

RECOMMANDATIONS

Au vu des différents résultats que nous avons obtenus et du fait de l'état critique et alarmante que présente l'antibiorésistance il est possible de formuler des recommandations envers le pouvoir public, les professionnels de la santé animale, les vétérinaires car la problématique de l'antibiorésistance en santé animale concerne tous les acteurs et décideurs des filières de production animale et parce qu'il existe une seule santé :

✓ Recommandations en direction du pouvoir public :

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

✓ Recommandations en direction des vétérinaires :

- Œuvrer pour le respect de la déontologie vétérinaire et les directives des pouvoirs publics en matière d'élevage et de santé animale.
- Recourir, aux analyses de laboratoire pour affiner leur diagnostic, et d'orienter leur traitements en fonction des résultats des antibiogrammes.
- Sensibiliser et former les éleveurs sur les risques liés au manque d'hygiène et au danger de l'utilisation incontrôlée des antibiotiques.

- Evaluer le bénéfice des traitements alternatifs permettant de limiter le recours aux antibiotiques.
- Sensibiliser les vétérinaires et les éleveurs pour l'utilisation des antibiotiques.

✓ Recommandations en direction des éleveurs :

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

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

✓ Recommandations en direction des chercheurs :

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

✓ Recommandations pour les vétérinaires :

- Interdiction de vente d'injectable directement aux éleveurs.
- Réduire quantitativement l'utilisation d'antibiotique et améliorer qualitativement leur utilisation.

Références bibliographiques

- Adjidé, C. Extended-spectrum betalactamases producing *Escherichia coli*: a new health-care associated infection threat? *Pathol Biol* 54: 510–17.
- AFSSA. Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. In : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, Site de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. [enligne], Janvier 2006, p. 214 [http://www.afssa.fr/ftp/afssa/35821-35822.pdf] date de consultation le 29-082012.
- Akam A.1A. Bouyoucef 2, K. R. FREQUENCE D'ISOLEMENT ET ANTIBIORESISTANCE DESSOUCHES D'ESCHERICHIA COLI F5+ ISOLEES CHEZ LES VEAUX DE LA MITIDJA (ALGERIE). *Bulletin USAMV-CN*, 64/2007 (1-2).
- Amazian K. R. (2010). Prevalence of nosocomial infections in 27 hospitals in the Mediterranean region. . *East Mediterr Health J* 16: 1070-1078.
- Ambler R. (1980). The structure of beta-lactamases. . *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 289: 321-31.
- Anses.fr/fr/search/site/colistine?iso1=fr&iso2=en), (. (n.d.).
- ARIL JL, D. H. (1988). *La Bactériologie clinique* 2^{ème} P : 149.
- Badouei M. A. (2015). Virulence profiling and genetic relatedness of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from humans and ruminants. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*. 38:15-20.
- Bergey's M. *Manual of systematic Bacteriology* .2001. 2^{ème} Edition .vol 1.
- Berrazeg M. D. (2014). New Delhi Metallo- β -lactamase around the world: An Review using Google Maps. . *Euro Surveill* 19: 20809.
- Blattner et al. (1997). The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*. 277 (5331):1453-1462.
- Bonnet R. C. (2006). B-lactamines et entérobactéries. In: *Antibiogramme*. Paris. ESKA : 2^{ème} édition 15: 141-62. .
- Bousseboua H. (2005). *Microorganisme et santé* .In : *Eléments de microbiologie*.2^{ème} édition .Campus-club. Algérie. p 265.
- Brzuszkiewicz a. (2011). Genome sequence analyses of two isolates from the recent *Escherichia coli* outbreak in Germany reveal the emergence of a new pathotype: Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EAHEC). *Archives of Microbiology*. 193 (12):883-891.
- Bush K. (2010). Bench-to-bedside review: The role of beta-lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. *Crit Care* 14: 224.
- Bush K. (2013). Proliferation and significance of clinically relevant β -lactamases. *Ann N Y Acad Sci* 1277: 84-90.

- Bush K. (2010). Updated Functional Classification of β -Lactamases. . Antimicrob Agents Chemother 54: 969-76.
- Bush K. J. (1995). A functional classification scheme for beta-lactamase and its correlation with molecular structures. Antimicrob Agents Chemother 39: 1211–33.
- Buttiaux R et al. (1956). « Epidemiologie research on gastroenteritis due to Escherichia coli in a Hospital in Northern France. Arch Mal Appar Dig Mal Nutr 45 : 225-247.
- Calderwood S et al. (1996). Proposed new nomenclature for SLT (VT) family. . ASM News, 1996, 62, 118-119.
- Carattoli A. (2009). Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae. Chemother 53:2227-2238.
- Cattoir. (2012). Quinolones : de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance.Rev Francoph Lab 445: 79-87.
- Cattoir V. (2004). Efflux-mediated antibiotics resistance in bacteria. Pathol Biol 52: 607-16.
- CHALMERS RM A. H. Waterborne Escherichia coli O. Journal of applied Microbiology 2000; 88(supplement):124S-132S.
- Chapman J. a. (1988). Routes of quinolone permeation in Escherichia coli.Antimicrob Agents Chemother 32: 438–42.
- Chatellet M. (2007). modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin : enquête en Anjou,. thèse de doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil, 11-149.
- CourvalinP. (2012). Antibiogramme. . Paris ESKA 3ème édition.
- Cowling G. (2003). The distribution and genetic structure of Escherichia coli in Australian vertebrates: host and geographic effects. Microbiology. 149 (12):3575-3586.
- Croxen a. M. (2013/2007). Identification of unconventional intestinal pathogenic Escherichia coli isolates expressing 155 intermediate virulence factor profiles by using a novel single-step multiplex PCR/Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. Environmental Microbiology. 73 (10):3380-3390./Clinical Microbiology Reviews. 26(4):822-880.
- Croxen M (2010). Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity.Nat Rev Microbiol 8: 26-38.
- Mohammadi D. (2001). « Classification et mode d'action des antibiotiques » . Médecine du Maghreb n°91.
- D'après van Elsas et al./et Campos et al. (2013; 2011). Survival of Escherichia coli in the environment: fundamental and public health aspects./Environmental Influences on Faecal Indicator Organisms in Coastal Waters and Their Accumulation in Bivalve Shellfish. The Isme Journal. 5 (2):173-183./Estuaries and Coasts. 36 (4):834-853.

- Dallman a. (2012). Characterization of a verocytotoxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* serogroup O111:H21 strain associated with a household outbreak in Northern Ireland. *Journal of Clinical Microbiology*. 50 (12):4116-4119.
- Darcan a. (2009). Viable but Non-Culturable State (VBNC) of *Escherichia coli* Related to EnvZ under the Effect of pH, Starvation and Osmotic Stress in Sea Water. *Polish Journal of Microbiolog*. 58 (4):307-317.
- Dennis H. B. (1996). Modulation of chemical composition and other parameters of the cell by growth rate . F.C Neidhardt, R Curtiss, III, J.L Ingraham, p. 1553-1569.
- Dobrindt U. Genetic structure and distribution of four pathogenicity islands (PAIIV(536)) of uropathogenic *Escherichia coli* strain 536. . *Infect Immun* 70,6365-72 (2002).
- Dobrint U. Analysis of genome plasticity in pathogenic and commensal *Escherichia coli* isolates by use of DNA arrays. *Journal of Bacteriology*. 185 (6):1831- 1840Dobrindt, U. 2005. Patho-)Genomics of *Escherichia coli* . *Journal of Medical Microbiology*. 295 (6-7):357-371.
- Dobrint, a. (2010). Genome dynamics and its impact on evolution of *Escherichia coli*. *Medical Microbiology and Immunology*. 199 (3):145-154.
- Doi Y. a. (2007). 16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides. *Clin Infect Dis* 45: 88-94.
- Doit C. M.-K. (2010). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu. .*Arch Péd* 17: 133-44.
- Drissi M. A. (2008). Antibiotic susceptibility and mechanisms of β -lactam resistance among clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*: first report in Algeria. . *Med Mal Infect* 38: 187-91.
- Drlica K. (1997). DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. . *Microbiol Mol Biol Rev* 61: 377-92.
- Dutta a. Ramamurthy. (2015). Heterogenic virulence in a diarrheagenic *Escherichia coli*: Evidence for an EPEC expressing heat-labile toxin of ETEC. . *International Journal of Medical Microbiology* 305 (1):47-54.
- Elsaset a. v. (2011). Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. *The Isme Journal*. 5 (2):173-183.
- Escobar P et al. A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in *Escherichia coli*. *Mol Biol Evol* 21, 10 :85-94 (2004).
- Escobar P. (2006). Identification of forces shaping the commensal *Escherichia coli* geneti structure by comparing animal and human isolates. *Environ Microbiol* 8, 19 :75-84.
- FASSI-FERHI M.M J. D. (1988). Epidémiologie des diarrhées à *Escherichia coli* et à rotavirus chez le veau et l'agneau au maroc",. *Ann. Rech. Vét.*, (19), 59-64.
- FLAUDROIS J. Bactério Gén /croissance bactérienne. Cours de Bactériologie Médicale DCEM1UFR Médecine Lyon Sud-Laboratoire de biométrie 2004.P :1-3-10.

- FOSTER D. (2009). Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet. Clin. . North Am. Food Anim. Pract.*, 25, 13-36.
- Françoise Van Bambeke D. S. (2007/ 2008). « Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse ». Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire Université catholique de Louvain.
- Frank et al. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *The New England Journal of Medicine*. 365 (19):1771-1780.
- Garau J. X.-C.-V. (1999). Emergence and dissemination of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the Community. . *Antimicrob Agents Chemother* 43: 2736–41.
- Guiraud J. Génétique microbienne, Bases théoriques et introduction aux applications pratiques. Paris : Technique et documentation-Lavoisier, 1993 ;chap 2 et 3, pages 83-151.
- Girardeau a. (2005). Association of virulence genotype with phylogenetic background in comparison to different serotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*. 43 (12):6098-6107.
- Greatorex J .S T. G. Humoral immune responses to shiga-like toxins and *Escherichia coli* O157 lipopolysaccharide in hemolytic-uremic syndrome patients and healthy. *J clin microbial* 2000; P 32:1172-1178.
- Grimont P. a. (1987). Taxonomie des *Escherichia*. *Médecine et maladies infectieuses* 17,6–10.
- Guyer a. Sat, the secreted autotransporter toxin of uropathogenic *Escherichia coli*, is a vacuolating cytotoxin for bladder and kidney epithelial cells. *Infect Immun* 70, 45 : 39-46 (2002).
- Hendrickson H. Order and disorder during *Escherichia coli* divergence. . *PLoS Genet* 5, 2000 p : 335 .
- Hacker J. Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annu Rev Microbiol* 54, 641-79 (2000).
- Hélène M.M. L. (2014). RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ LES COLIBACILLES AGENTS DE COLIBACILLOSES CHEZ LE VEAU.
- Holland R et al. Characterization of eae + *E. coli* isolated from healthy and diarrheic calves. *Vet Microbiol*. 1999 May ; 66(4) : 251-63.
- Hiramatsu K. (2001). Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. . *Lancet Infect Dis* 1: 147-55.
- Ishii et al. (2006). . Presence and growth of naturalized *Escherichia coli* in temperate soils from Lake Superior watersheds. *Applied and Environmental Microbiology*. 72 (1):612-621.
- ISO16654. (2001). Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia*.

- John G. Bartlett L. A. (1975). « Comparative Effect of Tetracycline and Doxycycline on the Occurrence of Resistant *Escherichia coli* in the Fecal Flora ». *Antimicrob. Agents Chemother.* Jan 1975 vol. 7:55-57.
- Johnson J. e. (2007). « antimicrobial drug-resistant *Escherichia coli* from humans and poultry products, 2002-2004 » .*Emerg. Infect. Dis.*,13, 838-846.
- Rahal K et al. (n.d.). « les antibiotiques » . office des publications universitaires.
- Kaneene J W. L. (2009). Changes in multidrug resistance of enteric bacteria following an intervention to reduce antimicrobial resistance in dairy calves. *J. Clin Microbiol.* 2009; 47: 4109-12.
- Kaper a. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2:123-140.
- Kaper N. e. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. . *Clinical Microbiology Reviews.* 11 (1):142-201.
- King a. (2014).
- Knothe GP, S. P. (1983). Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 11:315-7.
- Krishnappa L. J. (2012). Detection of pan-amino glycoside resistant Gram negative bacteria using a molecular method. . *South Asian J Exp Biol* 2: 256-8.
- Le Minor I R. B. (1956). Epidemiologic Research on Gastroenteritis Due to *Escherichia coli* in a Hospital in Northern France .*Arch. Mal. Appar. Dig. Mal. Nutr.*, vol. 45,, pp. 225-24.
- Lacroux H. PLACE DE LA COLIBACILLOSE CHEZ LE JEUNE VEAU ET ANTIBIORÉSISTANCE DANS L'ALLIER PART OF COLIBACILLOSIS IN YOUNG CALF SCOURS AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN FRANCE (2011 AND 2013). Communication présentée le 2 Juin 2016 Manuscrit accepté le 10 Juin 2016).
- Lambert T. A. (2006). *Antibiogramme*. Paris ESKA 2^{ème} édition 19: 227-46.
- LAPLAZE J. (2002). Rôle des *Escherichia coli* producteurs de cytotoxines dans la diarrhée du veau. . Thèse Méd. Vét., Toulouse, 62p.
- Levine M. (1998). . *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enter hemorrhagic, and enter adherent . *J. infect. is.* p 155:377-389.
- Levy S.B F. G. «changes in intestinal flora of farm personnel after introduction of a tetracycline-supplemented feed on a farm» . *Eng. Journ. Med.* (1976). P:583-588 .
- Lewis R. (2009). US Food and Drug Administration (FDA). The rise of antibiotic resistant infections. http://www.fda.gov/fdac/features/795_antibio.html.
- LOBRIL J. Réévaluation du modèle de croissance de Monod : effets des antibiotiques sur l'énergie de maintenance. Thèse de l'université de Lyon I France 1998 : 42-77.
- Lukjancenko a. (2010). Comparison of 61 sequenced *Escherichia coli* genomes. *Microbial Ecology.* 60 (4):708-720.

- Machado a. (1998).
- Magnet S. a. (2005). Molecular insights into aminoglycoside action and resistance. .Chem Rev 105: 477-98.
- MAINIL J. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'E.coli : I) les adhésines et facteurs de colonisation. Ann. Méd. Vét., 147, 105-126.
- Mainil J. G. (2005). Verotoxigenic Escherichia coli from animals, humans and foods: who's who? J Appl Microbiol 98:1332-1344.
- MAINIL j. S. Verocytotoxins and Shiga verotoxigenic Escherichia coli in animals. Vet. Res., 1999, 30, 235-257.
- Mandell GL B. J. (2009). Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Sixième édition, Elsevier, Churchill Livingstone éditeurs, USA. Édition en ligne. <http://www.ppidonline.com>.
- Mariani-Kurkdjian a. (2014). Haemolytic-uraemic syndrome with bacteraemia caused by a new hybrid Escherichia coli pathotype. New Microbes New Infections. 2 (4):127-131.
- MARTEL J.L. C. M (1981). Fréquence de l'antigène K99 et antibiorésistance chez E. coli d'origine bovine en France, .Ann. Rech. Vét., (12), 253-257.
- Martinez-Martinez L. P. (1998). Quinolone resistance from a transferable plasmid. . Lancet 351: 797-9.
- Martins, a. (2015). Diversity of Shiga toxin-producing Escherichia coli in sheep flocks of Parana State, southern Brazil. Veterinary Microbiology.. 175 (1):150-156.
- MAURE D. (1986). «Etude pharmacologique et toxicologique de la colistine. Applications aux maladies néonatales du veau», .Université Claude Bernard, Lyon.
- McDermott P. W. (2003). Antimicrobials: modes of action and mechanisms of resistance. . Int J Toxicol 22(2), 135-143.
- Mainil J. Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'E. Coli (I). Les adhésines et facteurs de colonisation. Ann. Med. Vet. 2003;147(2);105-126.
- Mérens A. a. Mechanisms and epidemiology of fluoroquinolone resistance in 2010. Rev Francoph Lab 422: 33-41.
- Mitsuyam, J. I. (1992). In vitro antibacterial activities of tosufloxacin against and uptake of tosufloxacin by outer membrane mutants of Escherichia coli, Proteus mirabilis, and Salmonella typhimurium. Antimicrob Agents Chemother 36: 2030-6.
- MOLBAK K. S. F. Verocytotoxin-producing E. coli and other diarrhoeagenic E.coli In: World Health Organisation. Waterborne Zoonoses. J.A. COTRUVO, A. DUFOUR, G. REES, et al. Londre: IWA Publishing 2006. Pages 213-237.
- Monnet D. (2000). Antibiotic use and bacterial resistance. Ann Fr Anesth Reanim 19: 409-17.

- Montet M. (2009). Contamination des aliments par *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (stec) en France, et importance de l'acide-résistance de la souche. *This ecole pratique des hautes etude*. p72.
- Morabito al. (1998). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111:H2 associated with an outbreak of hemolytic-uremic syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*. 36 (3):840-842.
- Murthy R. Implementation of strategies to control antimicrobial resistance. *Chest* 2001;119(suppl 2):405-11.
- Nyholm a. (2015). Comparative Genomics and Characterization of Hybrid Shigatoxigenic and Enterotoxigenic *Escherichia coli* (STEC/ETEC) Strains. *gatoxigenic and Enterotoxigenic*.
- Ochman H. a. (1984.). Standard reference strains of *Escherichia coli* from natural population. *Journal of Bacteriology*. 157 (2):690-693.
- Perichon B. C. (2007). Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. . *Antimicrob Agents Chemother* 51: 2464–9.
- Pitout JD H. N. (2004). Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended-spectrum β lactamases: importance of community isolates with blaCTX-M Genes. *Clin Infect Dis* 2004;38:1736-41.
- Pommepeuy et al. (1996). . Retention of enteropathogenicity by viable but nonculturable *Escherichia coli* exposed to seawater and sunlight. *Applied and Environmental Microbiology*. 62 (12):4621-4626.
- Posl P. a. (1998). . Production des vérocytotoxine par *Escherichia coli* du porc. *Annales de médecine vétérinaire*. p 133.31-38.
- Power et al. (2005). . Phenotypic and genotypic characterization of encapsulated *Escherichia coli* isolated from blooms in two Australian lakes. *Environmental Microbiology*. 7 (5):631-640.
- Putman M. v. (2000). Molecular properties of bacterial multidrug transporters.. *Microbiol Mol Biol Rev* 64: 672-93.
- Raibaud. (1985). Microbial ecology of the digestive system. *Agressologie: revue internationale de physio-biologie et de pharmacologie appliquées aux effets de l'agression*. 26 (2):161-163.
- Ramirez M. a. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat* 13: 151-71.
- Ramisse J. (1980). Résultats d'une enquête sur la diarrhée des veaux, . *Le Point Vét.*, 53, 53-60.
- Reid S. D. (1999). Sequence diversity of flagellin (fliC) alleles in pathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 181, 153–160.
- Reid S. D. (2000). Parallel evolution of virulence in pathogenic *Escherichia coli*. *Nature*. 406 (6791):64-67.

- Robicsek A. S. (2006). Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. . Nat Med 12: 83-88.
- 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 181, 1753– 1754.
- Rybak M. (2004). Resistance to antimicrobial agents: an update. an update. Pharmacotherapy 2004;24(suppl 12):203-15.
- Sauvager F. (n.d.). Université Rennes.
- Shakil S. K. (2008). Aminoglycosides versus bacteria--a description of the action, resistance mechanism, and nosocomial battleground. J Biomed Sci 15: 5-14.
- Smaoui S. (2015). Antibiotic resistance of community-acquired uropathogenic Enterobacteriaceae isolated in Sfax (Tunisia). . Med Mal Infect 45: 335–7.
- Smati a. (2013). . Real-time PCR for quantitative analysis of human commensal *Escherichia coli* populations reveals a high frequency of subdominant phylogroups.
- Smati a. (2015). Quantitative analysis of commensal *Escherichia coli* populations reveals host-specific enterotypes at the intra-species level. MicrobiologyOpen. 4 (4):604-615.
- Soloaga A. (1999). Insertion of *Escherichia coli* alpha-haemolysin in lipid bilayers as a nontransmembrane integral protein: prediction and experiment. Mol Microbiol 31:1013-1024.
- Soussy C.J . (2000). Antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* strains isolated in 1998 and 1999: results of a french multicenter study. Med Mal Infect 30: 650–6.
- Stewart a. Plos Biology February 2015.
- STORDEUR P M. J. (2002). « La colibacillose aviaire ». Ann. Méd. Vet.146.
- SURVEILLANE. Surveillance des infections à *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) et du syndrome hémolytique et urémique (SHU) en Europe. DGV de la commission des communautés européennes 1997 ; p : 12.
- Tenaillon O. D. (2010). The population genetics of commensal. Nature Reviews Microbiology. 8 (3):207-217.
- Touchon M et al. Organised genome dynamics in the *Escherichia coli* species results in highly diverse adaptive paths. PLoS Genet 5, e1000 p: 344 (2009).
- Thorene G. (1994). .Hormonal immune responses to shiga-like toxins and *Escherichia coli* ; p43.
- TOUZEAU B. (2009). Les colibacilloses néonatales caprines : évaluation du rôle pathogène d'*Escherichia coli*. .Thèse Méd Vét, Nantes, n°44, 99p.
- Tran J. a. (2002). Mechanisms of plasmid-mediated quinolone resistance. . Proc Natl Acad Sci USA 99: 5638–42.

- Tran J. J. (2005). Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein Qnr with *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrob Agents Chemother* 19: 118–25.
- Tymensen et al. (2015). Comparative accessory gene fingerprinting of surface water *Escherichia coli* reveals genetically diverse naturalized population. *Journal of Applied Microbiology*. 119 (1):263-277.
- Walk a. (2007). Genetic diversity and population structure of *Escherichia coli* isolated from freshwater beaches. *Environmental Microbiology*. 9 (9): 2274-2288.
- Wang L. (2013). Specific Properties of Enteropathogenic *Escherichia coli* Isolates from Diarrheal Patients and Comparison to Strains from Foods and Fecal Specimens from Cattle, Swine, and Healthy Carriers. Osaka: Japan. *Applied and Environmental Microbiology*. 79 (4):1232-1240.
- Webb HE G. S. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(2):144-5.
- Wohlkonig A. C. (2010). Structural basis of quinolone inhibition of type IIA topoisomerases and target-mediated resistance. *Nat Struct Mol Biol* 17: 1152–3.
- Yamane K. W. (2007). New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 51: 3354-60.
- Yamashita SK L. M. (2000). Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit. *Can J Infect Dis*.
- Yanat B. (2016). First report of the plasmid-mediated colistin resistance gene mcr-1 in a clinical *Escherichia coli* isolate in Algeria. *Int J Antimicrob Agents* 16: 30260-6.
- Yolanda Saenz L. B. « Mechanisms of Resistance in Multiple-Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* Strains of Human, Animal, and Food Origins ». *antimicrobial agents and chemotherapy*, (Oct. 2004), p. 3996–4001.
- Yoshida H. B. (1990). Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase gyrA gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 34: 1271-2.
- Zhang V. (2012). Correlation of Intracellular Trehalose Concentration with Desiccation Resistance of Soil *Escherichia coli* Populations. *Applied and Environmental Microbiology*. 78 (20):7407-7413.