

**UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB BLIDA 1**

**Institut des Sciences Vétérinaires**

# **MÉMOIRE DE MAGISTER**

En sciences vétérinaires

Option : Microbiologie médicale des maladies zoonotiques

## **RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTÉRIES ISOLÉES DES CAS D'OMPHALITES CHEZ LE POUSSIN**

Par

**Chahrazed YOUSFI**

Devant le jury composé de

A. BOUYOUCHEF	Professeur. U. Blida 1	Président
M. BACHIR PACHA	Professeur. U. Blida 1	Examineur
N. SAHRAOUI	Maître de conférences. U. Blida1	Examineur
A. AGABOU	Maître de conférences. U. Constantine 1	Promoteur

Blida, Février 2016

## RESUMÉ

Parmi les causes majeures de mortalités chez les poussins durant leur première semaine d'âge, figurent les omphalites et les infections du sac vitellin qui sont en intime relation avec l'hygiène des couvoirs. Une étude a été menée durant 6 mois à Constantine afin d'évaluer le niveau d'hygiène (air, surfaces et œufs à couver) de 03 couvoirs du secteur privé, d'identifier les bactéries responsables d'omphalites chez 114 poussins morts collectés de différents élevages et d'étudier leur sensibilité à des antibiotiques importants en médecine vétérinaire et humaine.

Ainsi des erreurs d'ordre conceptuel, structurel et fonctionnel ont pu être relevées au niveau des couvoirs visités avec des répercussions négatives sur leurs niveaux d'hygiène qui restent insuffisants et l'identification de bactéries hautement pathogènes pour la volaille et l'homme (*Salmonella spp*, *E. coli* entre autres). Les entérobactéries étaient responsables de 79.8% des mortalités liées aux omphalites avec une nette dominance d'*E. coli* (50.88%) suivi par *K. pneumoniae* (10.53%), *Pantoea spp* (5.26%), *Proteus mirabilis* (2.63%) et *Salmonella spp* (2.63%).

D'autres bactéries ont été aussi isolées ; mais dans très peu de cas (*S. marscens*, *C. lapagei*, *E. vulneris*, *E. cloacae*, *P. penneri*, *Y. enterocolitica*, *Pseudomonas spp*, *Acinetobacter spp*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp* et *Enterococcus spp*, *Pasteurella spp* et *Listeria spp*).

Ces bactéries ont démontré des niveaux de résistance alarmants aux différentes familles d'antibiotiques dont certaines ne sont pas utilisées en aviculture telles que les céphalosporines.

Les résultats de cette étude rappellent la nécessité d'un plan de contrôle plus rigoureux de l'hygiène en industrie du poussin d'un jours dans le but de bloquer toutes les voies de transmission ainsi que la rationalisation de l'usage abusif des antibiotiques qui

reste le facteur majeur d'apparition et de dissémination de la résistance au sein des différentes populations bactérienne afin de préserver l'efficacité de ces molécules.

**Mots clés**

Couvoir, poussin, omphalite, résistance , antibiotiques.

## ABSTRACT

Omphalitis and yolk sac infections are one of the most common causes of mortality in chicks during the first week after hatching. They are directly related to the hatcheries hygiene. A study has been conducted during 6 months at Constantine province in order to evaluate the hygienic status (air, surfaces and hatching eggs) of 03 private hatcheries, to identify the bacteria responsible of omphalites in 114 dead chicks and to study their sensitivity to antibiotics of importance in both veterinary and human medicine.

Many errors have been recorded in the design, the structure and functioning of the visited hatcheries. Their hygiene was poor and many bacteria were isolated with some highly pathogenic to birds and humans. *Enterobacteria* were responsible of 79.8% omphalitis related mortalities with a clear dominance of *E. coli* (50.88%), followed by *K. pneumoniae* (10.53%), *Pantoea spp* (5.26%), *Proteus mirabilis* (2.63%) and *Salmonella spp* (2.63%). Other bacteria were also identified but in few cases (*S. marscens*, *C. lapagei*, *E. vulneris*, *E. cloacae*, *P. penneri*, *Y. enterocolitica*, *Pseudomonas spp*, *Acinetobacter spp*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp* et *Enterococcus spp*, *Pasteurella spp* and *Listeria spp*).

These bacteria have shown alarming resistance levels to several antibiotic classes, some of which are unusually used in the poultry industry such as cephalosporins.

These results demonstrate the need for a more rigorous control plan of hygiene in the chick industry to block all bacterial transmission routes and streamlining the misuse of antibiotics which remains the major factor for the development and spread of resistance among different bacterial populations in order to preserve their effectiveness.

### **Key words**

Hatchery, chick, omphalites, bacteria, drug resistance

## الملخص

من بين الأسباب الرئيسية لوفيات الكتاكيت خلال الأسبوع الأول من عمرها، التهاب السرة و عدوى كيس المح، اللذان يرتبطان ارتباطا وثيقا بنظافة المحاضن. وقد أجريت دراسة خلال ستة أشهر في قسنطينة لتقييم مستوى النظافة (الهواء، الأسطح والبيض المحتضن) في 03 محاضن من القطاع الخاص، للتعرف على البكتيريا المسؤولة عن التهاب السرة لدى 114 كتكوت ميت مجموع من مختلف المربين ودراسة حساسيتها للمضادات الحيوية المستخدمة في مجال الطب البيطري والبشري.

وهكذا فالأخطاء الهيكلية والوظيفية يمكن أن تطرح في المحاضن التي تمت زيارتها، مع تداعياتها السلبية على مستويات النظافة التي تظل غير كافية، والتعرف على البكتيريا الممرضة للدواجن والناس ( *Salmonella spp* *E. coli* وغيرها). البكتيريا المعوية كانت مسؤولة عن 79.8% من الوفيات المرتبطة بالتهاب السرة مع هيمنة واضحة ل *E. coli* (50.88%)، متبوعة ب *K. pneumoniae* (10.53%)، *Pantoea spp* (5.26%)، *Proteus mirabilis* (2.63%) *Salmonella sppt*. ولكن في حالات قليلة جدا تم عزل البكتيريا الأخرى (*S. marscens*, *C. lapagei*, *E. vulneris*, *E. cloacae*, *P. penneri*, *Y. enterocolitica*, *Pseudomonas spp*, *Acinetobacter spp*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp* et *Enterococcus spp*, *Pasteurella spp* et *Listeria spp*).

وقد أظهرت هذه البكتيريا مقاومة كبيرة لمختلف عائلات المضادات الحيوية، والبعض من هذه المضادات لا تستخدم لدى الدواجن مثل السيفالوسبورين.

إن نتائج هذه الدراسة تؤكد الحاجة لوضع مخطط جاد لمراقبة النظافة و إنتاج كتكوت يوم واحد من أجل منع جميع طرق الانتقال و سوء الاستخدام العقلاني للمضادات الحيوية الذي يبقى العامل الرئيسي لظهور وانتشار المقاومة بين مختلف التجمعات البكتيرية من أجل الحفاظ على فعاليتها.

## كلمات المفتاح

محضنة، التهاب السرة، البكتيريا، مقاومة المضادات الحيوية.

## **DEDICACES**

Je dédie ce modeste travail à :

« Mes parents »

Pour tous les sacrifices qu'ils ont déployés et endurés afin de nous transmettre les valeurs fondamentales pour un bien être physique et moral.

« Ma sœur INES »

Pour ses précieux conseils et son grand soutien.

« A la mémoire de mes grands parents »

Jdidi Rabah, mani Ouardia (que j'adore pour sa grandeur d'âme), grand-mère Fatima Zohra, jadou Abdelmadjid puisse dieu les accueillir en son vaste paradis.

« Docteur Imed »

Qui m'a aidé dans l'achèvement de ce travail.

« Tous mes enseignants »

Plus particulièrement, mon encadreur Docteur AGABOU Amir.

« Tous mes collègues et amis »

## REMERCIEMENTS

En premier lieu, je tiens à remercier *Dr. AGABOU Amir*, pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail, et qui fut pour moi un encadreur attentif et disponible malgré ses nombreuses charges.

Sa compétence, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance m'ont beaucoup appris. Je lui suis également reconnaissante pour le temps conséquent qu'il m'a accordé, ses qualités pédagogiques, sa franchise, sa générosité et sa sympathie.

Le mot merci est insuffisant pour magnifier et décrire les devoirs et les sacrifices consentis par mes parents dans le cadre de mon éducation, aussi je remercie tous les membres de ma famille.

Je m'incline respectueusement devant le président de jury *Pr. A. BOUYOUCHEF* et les membres de jury : *Pr. M. BACHIR PACHA* et *Dr. N. SAHRAOUI*

Afin de leurs présenter mes sincères remerciements.

Avec beaucoup de considération, je témoigne toute ma gratitude au *Pr. E. BRERHI*, directeur de l'institut des sciences vétérinaires de Constantine, que je remercie vivement.

Je souhaite exprimer mes vifs remerciements, au *Pr. A. MEKROUD* directeur du laboratoire «PADESCA», pour l'accueil qu'il m'a réservé au sein de son laboratoire

Je remercie également le directeur du laboratoire d'hygiène : Monsieur *H. BOUZITOUN*, pour sa gentillesse et sa compréhension.

Mes sincères remerciements vont à l'encontre des vétérinaires, éleveurs et propriétaires de couvoirs.

J'adresse mes grands remerciements au *Pr. R. KABOUIA*

Je remercie énormément tous mes collègues de Blida et de Constantine.

*"Between animal and human medicine there is no dividing line nor should there be. The object is different but the experience obtained constitutes the basis of all medicine"*

*Rudolf Virchow*



## TABLE DES MATIERES

RESUME	
DEDICACES ET REMERCIEMENTS	
TABLES DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	15
CHAPITRE 1 : LA PRODUCTION DU POUSSIN D'UN JOUR	17
1.1 Rappels d'embryologie	17
1.1.1 La vésicule ombilicale (ou vésicule vitelline)	17
1.1.2 L'amnios	18
1.1.3 L'allantoïde	18
1.2. L'incubation	19
1.2.1 L'incubation naturelle	20
1.2.2 L'incubation artificielle	20
1.2.3 Le transport des poussins	33
1.2.4 Les problèmes des premiers jours	34
Chapitre 2 : HYGIENE ET MAITRISE DES INFECTIONS AU COUVOIR	36
2.1 L'implantation	36
2.1.1 La Situation	36
2.1.2 Les abords	37
2.2 La circulation	38
2.3 L'assainissement	39
2.4 La ventilation	39
2.5 Le sol, les parois et le plafond	41
2.6 Approvisionnement en eau	41
2.7 Le sas sanitaire	42
2.8 Hygiène des œufs à couvrir	42
2.9 Hygiène du couvoir (nettoyage/désinfection)	42
2.9.1 Les incubateurs	43
2.9.2 Les éclosoirs	43
2.9.3 Les salles	44
2.9.4 Le matériel	44
2.9.5 Les Camions de livraison	44
2.9.6 Le personnel	44

2.10	Contrôle de l'hygiène au couvoir	45
2.10.1	Contrôles visuels	46
2.10.2	Contrôle bactériologique	46
2.11	Maitrise des risques sanitaires au couvoir	51
2.11.1	Stockage des œufs	51
2.11.2	Gestion du stock d'œufs	52
2.11.3	Programmation de l'incubation	52
2.11.4	Mise sur plateaux d'incubation	53
2.11.5	Préchauffage	53
2.11.6	Incubation	54
2.11.7	Transfert	54
2.11.8	Eclosion	55
	CHAPITRE 3 : L'OMPHALITE	58
3.1	Introduction	58
3.2	Etiologies des omphalites chez les poussins	59
3.2.1	Contamination des œufs à couvrir au niveau des élevages de reproductrices	60
3.2.2	Contamination au niveau du couvoir et des élevages de production	60
3.3	Les pertes économiques liées aux omphalites	61
3.4	Les aspects symptomatique et lésionnel de l'omphalie du poussin	61
3.5	Traitement	62
3.6	Prévention	62
3.6.1	Mesures de prévention au niveau de l'élevage de reproductrice	63
3.6.2	Les mesures de prévention au niveau du couvoir	63
3.6.3	Les mesures de prévention au niveau de l'élevage de production	64
	Chapitre 4 : LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES	65
4.1	Définition de l'antibiotique	65
4.2	Classification des antibiotiques	66
4.2.1	Inhibiteurs de la synthèse de la paroi	66
4.2.2	Substances altérant la membrane plasmique	67
4.2.3	Inhibiteurs de la synthèse protéique	67
4.2.4	Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques	69

4.2.5 Inhibiteurs de la synthèse de l'acide tétrahydrofolique	69
4.3 Utilisation des antibiotiques en aviculture	70
4.3.1 L'usage métaphylactique	70
4.3.2 L'usage prophylactique	71
4.3.3 Facteur de croissance	71
4.4 Impact de l'antibiothérapie vétérinaire sur la santé humaine	71
4.4.1 Résidus de traitement et flore intestinale humaine	71
4.4.2 Diffusion des bactéries résistantes entre l'animal et l'Homme	72
4.5 La résistance aux antibiotiques	72
4.5.1 Définition	72
4.5.2 Les différents types de résistance	73
4.5.3 Les mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques	73
4.5.4 Les mécanismes de transfert des gènes de résistance	74
CHAPITRE 5 : ETUDE DU NIVEAU HYGIENIQUE ET CONTAMINATION	78
DES COUVOIRS	
5.1 Matériel et méthode	78
5.2 Résultats	87
5.3 Discussion	99
CHAPITRE 6 : BACTERIES RESPONSABLES D'OMPHALITES ET LEURS	107
SENSIBILITES AUX ANTIBIOTIQUES	
6.1 Matériel et méthode	107
6.1.1 Isolement des bactéries	107
6.1.2 Etude de la sensibilité aux antibiotiques bactéries responsables	108
d'omphalites chez les poussins.	
6.2 Résultats	113
6.2.1 Bactéries responsables d'omphalites	113
6.2.2 Sensibilités aux antibiotiques	115
6.3 Discussion	125
6.3.1 Bactéries responsables d'omphalites	125
6.3.1 Résistance aux antibiotiques	144
Conclusion, recommandations et perspectives	153
Appendices	155
A. Liste des Abréviations	155

B. Questionnaire sur l'évaluation du niveau hygiénique au niveau des couvoirs	157
Références bibliographiques	164

## LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

### LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Embryon de 20 jours	18
Figure 2.1 : Organisation des secteurs fonctionnels d'un couvoir	19
Figure 3.1 : Le bouton noir	59
Figure 4.1 : les sites d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne	70
Figure 4.2 : Mécanismes de transfert de gène de résistance	76
Figure 5.1 : Plan du couvoir A et schéma d'échantillonnage.	79
Figure 5.2 : Plan du couvoir B et schéma d'échantillonnage	80
Figure 5.3 : Plan du couvoir C et schéma d'échantillonnage	80
Figure 5.4 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par la Flore totale (CFU/Cm <sup>2</sup> /h couvoir A.	87
Figure 5.5 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par les entérobactéries (CFU/Cm <sup>2</sup> /h) couvoir A	87
Figure 5.6 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par les staphylocoques et les microcoques (CFU/Cm <sup>2</sup> /h) couvoir A	87
Figure 5.7 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par les streptocoques et les entérocoques (CFU/Cm <sup>2</sup> /h) couvoir A	87
Figure 5.8 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par <i>Pseudomonas spp</i> (CFU/Cm <sup>2</sup> /h) couvoir A	88
Figure 5.9 : Contamination des surfaces au niveau du couvoir A	89
Figure 5.10: Répartition spatiale de la contamination de l'air par la Flore totale (CFU/Cm <sup>2</sup> /h) couvoir B.	91
Figure 5.11 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par les entérobactéries (CFU/Cm <sup>2</sup> /h) couvoir B.	91
Figure 5.12 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par les staphylocoques et les microcoques (CFU/Cm <sup>2</sup> /h) couvoir B.	91
Figure 5.13 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par les streptocoques et les enterocoques (CFU/Cm <sup>2</sup> /h) couvoir B.	91
Figure 5.14 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par <i>Pseudomonas spp</i> (CFU/Cm <sup>2</sup> /h) couvoir B.	91

Figure 5.15 : Contamination des surfaces au niveau du couvoir B.	93
Figure 5.16 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par la Flore totale (CFU/Cm <sup>2</sup> /h) couvoir C	94
Figure 5.17 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par les entérobactéries (CFU/Cm <sup>2</sup> /h). couvoir C	94
Figure 5.18 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par les staphylocoques et les microcoques (CFU/Cm <sup>2</sup> /h). couvoir C	94
Figure : 5.19 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par les streptocoques et les entérocoques (CFU/Cm <sup>2</sup> /h) couvoir C	94
Figure 5.20 : Répartition spatiale de la contamination de l'air par <i>Pseudomonas spp</i> (CFU/Cm <sup>2</sup> /h). couvoir C	94
Figure 5.21 : Contamination des surfaces au niveau du couvoir C	96
Figure 6.1: Fréquences d'isolement des différentes espèces bactériennes responsables d'omphalites chez les poussins.	114
Figure 6.2: Sensibilité des entérobactéries identifiées aux différents antibiotiques testés	115
Figure 6.3 : Sensibilité d' <i>E. coli</i> aux différents antibiotiques testés	115
Figure 6.4 : Sensibilité de <i>K. pneumoniae</i> aux différents antibiotiques testés	117
Figure 6.5: Sensibilité de <i>Pantoea spp</i> aux différents antibiotiques testés	118
Figure 6.6: Sensibilité de <i>Proteus mirabillis</i> aux différents antibiotiques testés	119
Figure 6.7: Sensibilité de <i>Salmonella spp</i> aux différents antibiotiques testés	120
Figure 6.8: Sensibilité de <i>Cedecea lapagei</i> aux différents antibiotiques testés	120
Figure 6.9: Sensibilité d' <i>E. vulneris</i> aux différents antibiotiques testés	121
Figure 6.10: Sensibilité de <i>Serratia marsescens</i> aux différents antibiotiques testés	121
Figure 6.11 : Sensibilité d' <i>Aerococcus viridans</i> aux différents antibiotiques testés	122
Figure 6.12 : Sensibilité d' <i>Enterococcus faecium</i> aux différents antibiotiques testés	123
Figure 6.13 : Sensibilité d' <i>Enterococcus fecalis</i> aux différents antibiotiques	123
Figure 6.14 : Sensibilité de <i>Staphylococcus spp</i> aux différents antibiotiques	124

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Conséquences d'une mauvaise hygrométrie dans l'incubateur	27
Tableau 1.2 : Normes de la température et de la ventilation selon la capacité de l'incubateur	28
Tableau 2.1 : Normes de SADLER (D'après TBER et al., 1994)	48
Tableau 4.1 : Les principaux antibiotiques utilisés en aviculture en Algérie (Institut Pasteur d'Algérie, 2011)	71
Tableau 5.1 : Détection horizontale des <i>salmonelles</i> sur le duvet	85
Tableau 5.2 : Espèces bactériennes identifiées dans l'air du couvoir A et leurs lieux d'isolement	89
Tableau 5.3 : Espèces bactériennes identifiées dans l'air du couvoir B et leurs lieux d'isolement	92
Tableau 5.4 : Espèces bactériennes identifiées dans L'air du couvoir C et leurs lieux d'isolement	96
Tableau 5.5 : Bactéries contaminant les œufs à couvrir au niveau des trois couvoirs	98
Tableau 6.1 : Valeurs limites des diametres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité.	110
Tableau 6.2 : Antibiotiques testés	112
Tableau 6.3: Profils de résistance identifiés chez <i>E. coli</i> et leur fréquences	116
Tableau 6.4 : Profils de résistance identifiés chez <i>K. pneumoniae</i> et leur fréquences	117
Tableau 6.5 : Profils de résistance identifiés chez <i>Pantoea spp</i> et leur fréquences	118

## INTRODUCTION

L'Algérie a connu ces dernières années un développement assez important des élevages avicoles, pour faire face à une demande de plus en plus accrue en matière de protéines sous forme de viandes blanches et d'œufs.

Néanmoins, la productivité du secteur avicole reste insuffisante du fait de la multiplicité des facteurs limitant sa croissance, notamment ceux touchant aux bonnes pratiques de l'accoupage et la production de poussins dont la qualité conditionne les performances qui seront réalisées ultérieurement en élevage.

Les omphalites sont parmi les principales causes infectieuses de la mortalité des poussins pendant la première semaine de leur vie. Elles sont dues dans la majorité des cas au manque d'hygiène dans les couvoirs et dans les élevages de reproductrices, et elles ont un impact négatif sur les performances économiques de la filière avicole en raison de pertes assez considérables qu'elles lui infligent.

Ainsi, la détection précoce et précise des bactéries en cause est importante afin de réduire l'incidence de ces infections et les pertes qui en découlent. Les mesures de contrôle appropriées à entreprendre face à ce problème sont basées essentiellement sur la bonne gestion et l'hygiène aussi bien que sur l'administration d'antibiotiques dont l'usage abusif a conduit à l'émergence de souches bactériennes de plus en plus résistantes.

Au cours des dix dernières années, le problème des résistances bactériennes aux antibiotiques est devenu un sujet de préoccupation majeure pour le grand public et pour les scientifiques aussi. Les données expérimentales, épidémiologiques et moléculaires indiquent un rapport entre l'utilisation des antimicrobiens (surtout en élevage intensif) et l'émergence de souches bactériennes résistantes chez les animaux, puis leur propagation à l'homme, notamment via la chaîne alimentaire.

En Algérie, les infections du sac vitellin en particulier ont suscité peu d'attention et rares sont les investigations ayant porté sur ce problème qui continue d'être une entité pathologique négligée, mais l'une des plus dévastatrices chez la volaille.



Ainsi on a mené ce travail, qui a concerné trois couvoirs et 114 poussins collectés de treize élevages de poulets de chair du secteur privé de la wilaya de Constantine, avec les objectifs suivants :

- D'étudier de manière critique les mesures de sécurité sanitaire prise dans chaque unité d'accoupage ;
- D'évaluer les qualités du nettoyage et de la désinfection pratiquées par les accoueurs ;
- De déterminer les niveaux de contamination bactérienne externe et interne des œufs à couver ;
- Et d'identifier les bactéries isolées de cas d'omphalites et de tester leurs sensibilités envers des antibiotiques d'importance en thérapeutiques aviaire et humaine, afin de déceler les sources de contagion et de juguler leur propagation.

## **CHAPITRE 1**

### **LA PRODUCTION DU POUSSIN D'UN JOUR**

#### 1.1 Rappels d'embryologie

Le développement embryonnaire chez la poule se caractérise par le développement simultané de l'embryon et deux nouvelles annexes embryonnaires qui s'ajoutent à la vésicule ombilicale : la cavité amniotique et la vésicule allantoïenne. Ce sont des dispositifs visant à assurer la protection, la nutrition, la respiration et l'élimination des déchets métaboliques de l'embryon [1].

L'œuf de l'oiseau est télolécithe, c'est-à-dire que la partie embryonnaire au sens strict n'est constituée que par une zone superficielle discoïdale, localisée au pôle supérieur du jaune (disque germinatif où se dérouleront les segmentations).

L'œuf est fécondé dans les voies génitales de la femelle et plus précisément dans l'oviducte gauche, le droit étant atrophié. En descendant dans l'oviducte, il s'entoure de plusieurs couches d'albumen, des membranes et de la coquille. Lors de cette descente, les parois de l'oviducte impriment à l'œuf un mouvement de rotation autour de son grand axe. Le sens de cette rotation est attesté par la torsion des chalazes, deux cordons résultant d'une mucilagineuse et maintenant la masse du jaune en position centrale au sein de l'albumen [2, 3].

La succession des différentes segmentations de l'embryon mènera à la neurula et à la mise en place des annexes embryonnaires dont la première est :

##### 1.1.1 La vésicule ombilicale (ou vésicule vitelline)

Elle dérive d'une extension de l'endoderme de l'embryon autour du jaune, doublé ultérieurement d'une couche d'origine mésodermique. Elle reste en communication avec l'intestin jusqu'à la fin du développement embryonnaire grâce à l'existence du pédicule vitellin (Figure 1). Les parois de la vésicule vitelline sont très richement vascularisées ; cette irrigation, jointe aux capacités de sécrétions enzymatiques des cellules recouvrant le jaune, font de la vésicule vitelline un véritable organe nutritionnel extra embryonnaire

permettant l'absorption de nutriments [acides aminés] et leur transport jusqu'à l'embryon. La vésicule vitelline assure également la synthèse de protéines spécifiques et le stockage temporaire de produits de dégradation (avant que l'allantoïde ne remplisse ce rôle) [4, 5, 6].



**Figure 1.1:** Embryon de 20 jours [5]

### 1.1.2 L'amnios

Est une membrane protectrice qui enveloppe l'embryon comme un sac, le séparant du milieu environnant. Entre l'amnios et l'embryon subsiste la cavité amniotique emplies d'une sérosité dérivant du blanc de l'œuf.

La formation de l'amnios débute après 30 à 33 heures d'incubation sous forme d'un repli en provenance du feuillet externe se formant en avant de la « tête ». La cavité amniotique est totalement fermée après 4 jours.

La partie externe des replis amniotiques constitue la séreuse qui refoule progressivement devant elle tout le blanc de l'œuf en l'accumulant vers le petit bout ; la séreuse s'applique alors contre les membranes coquillières. Entre la séreuse et l'amnios existe au début une cavité (dite séro-amniotique) qui est ensuite comblée par le développement d'une autre annexe [2, 3, 4].

### 1.1.3 L'allantoïde

Est un diverticule endodermique de l'intestin qui se forme en arrière du pédicule vitellin à partir de 60 heures d'incubation ; il croît ensuite rapidement, envahit la cavité séro-amniotique puis recouvre l'amnios et la vésicule vitelline au 14<sup>e</sup> jour. Il recouvre même ce qui reste du blanc au petit bout de l'œuf.

Le rôle de l'allantoïde est quadruple :

- L'accolement de l'allantoïde avec la séreuse sur toute la périphérie de l'œuf constitue l'allanto-chorion extrêmement vascularisé : c'est avant tout l'organe respiratoire de l'embryon entre le 8<sup>e</sup> et le 19<sup>e</sup> jour ;
- L'allanto-chorion joue un rôle essentiel dans la mobilisation d'une partie du calcium de la coquille nécessaire à l'édification du squelette embryonnaire ;
- Jusqu'au 10<sup>e</sup> jour environ l'allantoïde intervient dans l'absorption du blanc ;
- La cavité allantoïdienne permet enfin le stockage des substances excrétées par le rein embryonnaire.

L'albumen est totalement utilisé pendant l'incubation. Au moment de l'éclosion, le chorion, l'amnios et l'allantoïde sont éliminés en même temps que les débris de la coquille.

Le reste du vitellus (jaune) soit 25% de la masse initiale, se rétracte dans la cavité abdominale au niveau de l'intestin moyen et sert de réserve au poussin dans les premières heures qui suivent l'éclosion.

On peut donc définir trois phases dans le développement embryonnaire :

- La première phase : S'étend du début de l'incubation au développement complet du bec. Pendant cette phase, on assiste à la mise en place des organes et des membranes.
- La deuxième phase : S'étend jusqu'à la formation significative des plumes du corps.
- La dernière phase : Se poursuit jusqu'à l'éclosion et inclut la rétraction du vitellus, ainsi que le passage du système respiratoire de l'allanto-chorion à celui des poumons [1, 2, 3, 4, 5].

## 1.2 L'incubation

L'incubation est l'action de l'oiseau qui couve ses œufs, c'est-à-dire qu'il les met dans les conditions les plus favorables au développement de l'embryon et à l'éclosion.

Elle peut être naturelle ou artificielle. Chez certaines espèces, on ne peut pas pratiquer l'incubation artificielle ; c'est le cas du pigeon.

### 1.2.1 L'incubation naturelle

L'incubation est dite naturelle quand la poule couve elle-même ses œufs sans intervention humaine, ce qui se passe sur terrain. On parle aussi d'incubation naturelle dans les élevages où l'on utilise une poule de ferme comme couveuse. Cette pratique ancienne est devenue exceptionnelle.

Aujourd'hui, l'incubation artificielle assure, grâce à un matériel spécialisé et à l'observation de normes définies de température, d'hygrométrie et de ventilation, la bonne conduite de l'incubation jusqu'à son terme, l'éclosion. Sa durée totale est de 21 jours chez la poule [7].

### 1.2.2 L'incubation artificielle

#### A. Historique

Les débuts de l'incubation artificielle remontent vers 400 A.J.C., Aristote décrivait la méthode de l'incubation artificielle par les Egyptiens qui furent, avec les chinois, les premiers à la pratiquer. En France, les premiers essais ont été réalisés vers 1730 par Réaumur. La méthode consistait alors à mettre les œufs à couvrir à l'intérieur d'un tas de fumier de cheval en fermentation, copiant en cela la pratique des mégapodes, oiseaux sauvage qui enterrent leurs œufs et les recouvrent de végétaux en décomposition.

Vers 1930, les premières couveuses artificielles fonctionnaient au pétrole. Vers 1960, les premiers incubateurs électriques apparaissent ; ils contiennent quelques centaines d'œufs.

Aujourd'hui, les capacités des incubateurs peuvent dépasser 100000 œufs et certains couvoirs ont une capacité d'incubation de 2 à 3 millions d'œufs. Ces couvoirs sont climatisés et régulés par ordinateur et de nombreuses tâches y sont automatisées [4].

## B. Collecte des œufs

Une fois les œufs pondus, il est nécessaire de les récolter le plus rapidement possible pour éviter tous risques de contamination et d'altération de l'embryon.

Les infections bactériennes pénètrent plus facilement dans les œufs fraîchement pondus. En effet, la coquille de l'œuf n'offre pas encore toute sa résistance, car elle n'est pas encore sèche, d'où la nécessité de faire un ramassage directement après la ponte [3, 8].

Pour bien conserver la bonne qualité hygiénique des œufs à couvrir, il est impératif de bien veiller à l'application d'un certain nombre de mesures lors de leur ramassage, mesures qui consistent à :

- Multiplier la fréquence de ramassage à intervalles réguliers (au minimum 2 fois par jour) et utiliser des récipients propres et désinfectés. Il existe une corrélation entre le taux d'éclosabilité et la fréquence de ramassage des œufs à couvrir.
- Récolter des œufs propres et pour ce faire, il faut inciter les poules à pondre dans des nids confectionnés par l'éleveur à un endroit sec sous abri.
- Ramasser les œufs avec des gants et chaque œuf peut être mis individuellement dans un sac plastique neuf pour éviter une contamination entre les œufs (contamination horizontale). Un marquage provisoire peut se faire au ramassage.
- Faire subir un premier tri à chaque lot d'œuf à couvrir dès les premiers instants du ramassage au niveau des élevages reproducteurs, en veillant à mettre de côté tous les œufs sales, cassés, fêlés et présentant des fuites ou des irrégularités [bosses] pour les écarter du lot à couvrir.
- Laver les mains avant toute manipulation des œufs.
- Mirer les œufs dès qu'ils sont récoltés, pour constater l'état de la coquille. Pour examiner les œufs, une lampe à mirer sera utile. Cette lampe sera puissante avec une focalisation précise. En général la lampe se place à la pointe de l'œuf où se trouve la chambre à air.
- Manipuler les œufs avec précaution, sans mouvements brusques, afin de ne pas endommager les tissus embryonnaires [9, 10, 11].

### C. Transport des œufs

L'acheminement des œufs à couver depuis les centres de production vers les établissements d'accouaison doit être réalisé dans des emballages neufs et propres, dans des véhicules propres et désinfectés.

Les œufs sont transportés dans des caisses conditionnées avec des alvéoles en mousse afin d'amortir les trépidations pendant le transport. Il faut toujours éviter que les œufs ne soient en contact entre eux pour prévenir les fêlures de coquilles dues aux chocs et la propagation des germes pathogènes.

Les trépidations pendant les trajets, surtout si les œufs doivent subir un long voyage, ont pour conséquence de diminuer le taux de fécondité. Une diminution de plus de 10% a été constatée lors de transport de quelques heures [3].

### D. Tri des œufs à couver

La qualité de la coquille et le poids de l'œuf sont importants dans la détermination des paramètres d'incubation. L'homogénéité des œufs, et sans doute indirectement celle des coquilles, est étroitement liée à celle du lot donneur. Le choix des paramètres d'incubation sera d'autant plus aisé, et correspondra au mieux aux besoins individuels des embryons, que les lots dont sont issus les œufs sont homogènes [4].

L'œuf à couver idéal a les caractéristiques suivantes

- Un rapport longueur/largeur proche de 1,4/1,0 ;
- Un poids et une taille en accord avec la moyenne du troupeau ;
- Il a été pondu dans un endroit sec, propre et protégé des poussières ;
- Il est issu d'un troupeau indemne de maladies ;
- Il n'a pas été souillé par des déjections ou par des copeaux ou paille ;
- Il n'a pas été sali par de l'albumen ou du jaune d'œuf d'autres œufs cassés ;
- Il a une couleur homogène [brun foncé à brun clair en fonction de l'âge du troupeau] et la coquille sera lisse, exempte de rugosités ou d'aspérités ;

- Sa coquille est intacte, non fêlée ou perforée. Elle n'est pas fragile ou poreuse[8]

#### E. Nettoyage et désinfection des œufs

Un œuf récolté propre et sec ne nécessite aucun soin particulier. Un nettoyage inopportun peut même endommager la cuticule qui protège la coquille et affaiblir ainsi la résistance naturelle de l'œuf à la pénétration des agents pathogènes [3].

Les œufs souillés seront nettoyés avec une brosse douce, à sec, pour les débarrasser des traces de terre et de matières organiques. Tout œuf souillé sera systématiquement désinfecté afin de limiter le risque de contamination horizontale dans l'incubateur [8].

Il existe deux types d'infection ou contamination : la contamination verticale qui est congénitale et a lieu au niveau des ovaires et de l'oviducte [*salmonelle*, *mycoplasme*, virus....] et la contamination horizontale, non congénitale, qui a lieu après l'oviposition. À ce moment l'œuf est chaud et humide et sa température diminue rapidement. Il s'opère alors une rétraction naturelle du contenu de l'œuf [permettent la formation de la chambre à air] accompagnée d'un phénomène de succion des germes au travers la coquille [4,12].

La désinfection des œufs avant l'incubation est obligatoire. Une bonne désinfection augmente les chances de succès de l'incubation, la qualité microbiologique des œufs étant un facteur primordial [13].

Quelle que soit la méthode choisie, la désinfection ne pourra être considérée comme efficace que si elle est réalisée sur une surface propre. Rares sont en effet les désinfectants qui agissent convenablement sur de la matière organique ou les poussières [13].

Après désinfection, les œufs seront essuyés de manière à ne pas avoir d'eau qui coule puis laissés à sécher à l'air libre.

La désinfection des œufs ne supprime jamais tous les agents pathogènes. Elle permet seulement d'en diminuer le nombre et par conséquent, permet d'augmenter les chances de réussite de l'incubation [1, 3, 8].



## F. Marquage des œufs

Après le nettoyage des œufs, un code sera apposé sur la coquille du côté de la chambre à air afin de pouvoir les identifier [3].

## G. Stockage des œufs

Après la ponte, le développement embryonnaire s'arrête, et ce définitivement si la température ne dépasse pas 20 à 21°C [8].

Le stockage est une étape indispensable durant la quelle la chambre à air va se former, du côté le plus large de l'œuf où les pores sont plus nombreux et laisse passer l'air entre la membrane interne et la membrane externe. Lorsque l'œuf est laissé au repos quelques jours (au minimum 2 jours), l'albumen se dégrade et permet à l'embryon de se rapprocher de la chambre à air, pour autant que l'œuf soit maintenu en position verticale, côté large vers le haut, la densité du jaune étant inférieur à celle de l'albumen [4].

Le stockage favorise même la perte en eau durant l'incubation sans pour autant avoir d'effets négatifs sur l'éclosabilité. Néanmoins une durée de stockage qui dépasse les 7 à 8 jours à un effet certain sur les taux d'éclosion, la qualité des poussins et même leur croissance ultérieure.

Le local de stockage doit être propre, bien ventilé et à l'abri de toute condensation et prédation.

L'embryon minuscule entrera dans un état de latence et pourra être conservé sans danger jusqu'à un maximum de 10 jours. Ses chances d'évoluer correctement ne seront pas diminuées par cette latence pour autant qu'elle se fasse dans de bonnes conditions de température, d'humidité, et de retournement de l'œuf [3].

Les œufs à couvrir sont stockés à une température fraîche [15-20°C en général 13-15°C] et une humidité relative de 75%-80% [8].

Le retournement des œufs pendant cette période est conseillé et sera effectuée 6 à 8 fois par jour, il permettrait à l'embryon d'être exposé à des sources nouvelles de nutriments et que ceci lui conférerait la capacité de mieux résister à des périodes de stockage prolongées [4].

Souvent les œufs sont stockés la pointe vers le bas. Mais certains recommandent parfois de les stocker le petit bout vers le haut en cas de durées de stockage supérieures à 15 jours. Dans le cas de stockage long, l'emploi de sacs en plastique imperméables aux gaz a été décrit [3].

En fin, le stockage des œufs permet de constituer des lots d'œufs qui seront mis en même temps dans l'incubateur et avoir ainsi des groupes de poussins de même âge [8].

Avant l'incubation proprement dite, il est conseillé de mettre les œufs en équilibre thermique avec la température du couvoir c'est-à-dire pratiquer un préchauffage.

## H. Préchauffage

Les techniques employées sont variables ; mais elles sont toutes basées sur une augmentation progressive de la température à un niveau qui permet la régénération cellulaire. Il a été démontré que le développement morphologique de l'embryon continuait lorsque la température interne de l'œuf dépassait les 27°C [8].

## I. Les paramètres d'incubation proprement dite

### II. La température

La température est le paramètre le plus important pour la réussite de l'incubation. Pour l'embryon, la température optimale d'incubation se situe entre 37.7°C et 37.8°C [8].

La température de coquille est un bon reflet de la température vécue par l'embryon [Les écarts entre la coquille et l'embryon ne dépassent pas souvent les 0,1-0,2°C] et il est donc possible d'adapter les consignes de la machine en fonction des températures relevées au niveau de la coquille [4].

Il est conseillé d'obtenir une température à la surface de l'œuf comprise entre 37.6°C et 37.9°C selon les stades d'incubation. En début d'incubation, une température plus élevée accélère le développement du poussin ; une température plus faible a les effets inverses [14].

La température optimale est fonction de la taille de l'œuf, de la qualité de la coquille qui régule la perte d'eau de l'œuf et influence donc l'humidité à l'intérieur de l'incubateur, et du temps de stockage de l'œuf qui agit également sur la durée d'incubation. Le type génétique peut intervenir sur la température optimale d'incubation [8].

En effet, le développement de l'embryon est d'abord endodermique, c'est-à-dire qu'il a besoin de chaleur, et ce jusqu'au 8<sup>e</sup> jour. Au-delà, il produit de la chaleur dont il faudra assurer l'élimination. C'est pourquoi certains utilisent la technique d'incubation dite à chargement partielle par tiers, où des œufs non encore incubés vont être introduits en présence d'œufs en cours d'incubation, ces derniers fournissant la chaleur nécessaire au développement des premiers. L'introduction d'œufs non incubés provoque toutefois une variation de température qu'il convient de limiter au maximum. Dans le cas de chargement unique, il faut veiller à fournir la quantité de chaleur nécessaire pour obtenir rapidement la température optimale d'incubation [1, 4].

La régulation de la température est assurée par chauffage à l'aide de résistance électrique, par refroidissement grâce à une circulation d'eau dans les serpentins ou une pulvérisation d'eau, et par homogénéisation de la température dans la machine à l'aide de ventilateurs assurant un brassage de l'air [3].

## I2. Hygrométrie

Le taux d'humidité relative dans un incubateur est un paramètre déterminant pour la réussite de l'incubation artificielle. Les fluctuations du taux d'humidité ne sont pas aussi destructrices que celle de la température. [16] .Un taux d'humidité adéquat permet une meilleure assimilation du calcium et augmente la taille de l'embryon et facilite l'éclosion et le bêcheage. L'humidité doit être contrôlée pour permettre un bon développement de l'embryon [4].

La perte d'eau normale en incubateur est d'environ 12% du poids de l'œuf ; sur la période totale de l'incubation, elle est de 15 %. La perte d'eau est conditionnée par le contrôle de l'humidité ambiante. Dans les incubateurs celle-ci est comprise entre 50% et 60% d'humidité relative ; dans les éclosiers, environ 70% d'humidité relative sont requis [8].

La quantité de vapeur d'eau perdue par l'œuf dépend du nombre de pores et de leur dimension. Une humidité basse ou élevée engendre des conséquences négatives sur les différents stades de développement montrée dans le tableau 1.1.

**Tableau 1.1:** Conséquences d'une mauvaise hygrométrie dans l'incubateur [3].

	<b>Hygrométrie trop élevée</b>	<b>Hygrométrie trop basse</b>
<b>Œuf</b>	Augmentation de la contamination et développement des bactéries.	Fuite hydrique entraînant des adhérences
<b>Embryon</b>	Mort tardive par défaut de perte d'eau.	
<b>Eclosion</b>	Prématurée	Eclosion difficile et tardive
<b>Poussin</b>	Faible, non mobile, poisseux, œdèmes sous cutanés	Sec, petit, déshydraté, adhérent à la coquille
<b>Cordon ombilical</b>	Omphalite	Sec

### I3. La ventilation

Le poussin consomme 6.6g (soit 4.6 litres) d'oxygène et produit 7.6g (soit 3.9 litres) de gaz carbonique en 21 jours, les quantités étant très faibles en début d'incubation et croissantes par la suite. La fourniture d'oxygène et l'élimination du gaz carbonique est de 0.4% dans l'incubateur, contre 0.5 à 0.6% en éclosoir. [4]

Chaque pièce devrait être aérée comme unité séparée avec de l'air déplacé évacué à l'extérieur du bâtiment. L'air entrant devrait être chauffé en hiver et refroidi en été, il devrait être humidifié au besoin. Plus d'air devrait circuler à travers les salles pendant la saison d'été que la saison d'hiver ; Par ailleurs les régulateurs devraient être installés sur tous les ventilateurs d'aération pour fournir le flux accru ou diminué pour aider la température ambiante de commande [15].

Si la ventilation est insuffisante, le taux d'oxygène décroît rapidement et la concentration en CO<sub>2</sub> augmente ce qui a pour conséquence l'apparition de coins humides dans l'incubateur et une augmentation de l'humidité à la surface des œufs [création d'un microclimat favorisant la croissance de germes pathogènes]. D'autre part, une circulation défectueuse induit une distribution inégale de la chaleur dans l'incubateur [3].

L'équilibre entre température, humidité et ventilation doit être adapté à la porosité de la coquille de l'œuf. Une plus grande porosité augmente l'évaporation et le risque

d'infections par des germes pathogènes. Il faut donc une température plus basse et une humidité relative plus haute [8].

Des œufs insuffisamment poreux sont problématiques à cause d'une chambre à air trop peu volumineuse. L'embryon pourrait alors être asphyxié ou souffrir de dommages irréversibles causés par une concentration en CO<sub>2</sub> trop élevée.

Les conséquences d'une concentration en CO<sub>2</sub> trop élevée sont les suivants :

- Un pourcentage réduit d'éclosion des œufs ;
- Des poussins qui meurent dès l'entrée dans la chambre à air ;
- Une mauvaise occlusion de l'ombilic ;
- Une absorption incomplète du vitellus ;
- Des poussins sans vigueur. [3]

**Tableau 1.2:** Normes de température et de ventilation selon la capacité de l'incubateur [8].

Capacité d'incubateur [Œufs]	consignes de température		Ouverture des trappes de ventilation
	Min [°C]	Max [°C]	
≤ 25000 œufs	37.6	37.7	30%-40%
25000 - 50000	37.6	37.8	40%-50%
50000 - 75000	37.5	37.6	40%-60%
75000 - 100000	37.4	37.5	40%-70%
≥ 100.000	37.4	37.5	40%-70%

#### 14. Le retournement

Pendant l'incubation, les œufs sont placés la pointe vers le bas. D'autre part, ils sont retournés de 45° de part et d'autre la verticale, plusieurs fois par jour. En pratique, cette opération est réalisée une fois toutes les heures ou toutes les deux heures [4]. Le retournement est nécessaire pendant les 14 à 15 premiers jours, son absence provoque une adhésion du jaune aux membranes coquillères. Par la suite, elle limite les échanges gazeux,

augmente les positions anormales de l'embryon et entrave une bonne homogénéisation de la température [3].

### 15. Le transfert

Le transfert est une opération qui consiste à faire passer les œufs de la salle d'incubation à la salle d'éclosion entre le 17<sup>e</sup> et le 19<sup>e</sup> jour. Il est conseillé de réaliser cette opération avec le plus de précaution possible sans choc ni mécanique ni thermique afin de ne pas perturber le bon déroulement de l'incubation. Le mode de transfert peut être manuel ou automatique, mais ce dernier offre plusieurs avantages d'être plus rapide, permet un meilleur positionnement des œufs sur les casiers de l'éclosion, moins d'ennui pour le personnel et améliore le taux d'éclosion. Durant le transfert, on profite d'effectuer en même temps l'opération de mirage [3].

### 16. Mirage

Le mirage consiste à mirer les œufs à l'aide d'une mireuse ou mire œuf afin de s'assurer de l'état de son contenu. Cette opération doit être réalisée le plus rapidement possible sans choc ni mécanique, ni thermique pour ne pas perturber le bon déroulement de l'incubation. L'objectif est de déceler les œufs clairs non fécondés mais également les mortalités embryonnaires précoces et les œufs pourris. [4]

## J. L'éclosion

### J1. Mise en éclosoir

Aux environs du 18<sup>e</sup> jour d'incubation, les œufs sont déplacés de l'incubateur à l'éclosoir placé dans la salle d'éclosion. L'éclosoir ressemble à un incubateur, à la seule différence qu'il n'est pas équipé d'un système de retournement des œufs qui y sont déposés à plat dans des compartiments [3].

Comme pour la salle d'incubation la mise en place des œufs dans la salle d'éclosion nécessite également le contrôle et la maîtrise des paramètres liés aux conditions d'ambiance :

- La température : Doit être légèrement basse que dans l'incubateur. La température idéale est de 37°C.
- L'humidité : L'humidité doit d'abord croître pour favoriser la rupture de la coquille puis décroître après l'éclosion afin que le séchage des poussins soit assuré.
- La ventilation : L'approvisionnement d'air frais doit être suffisant pour empêcher un manque de l'oxygène. La ventilation doit être minimale au début d'éclosion afin d'aider la respiration pulmonaire initiale [déclenchée par un niveau augmenté de CO<sub>2</sub>]. Par la suite elle doit être augmentée jusqu'à devenir maximale à la fin de l'éclosion [4].

Le temps de l'éclosion dépend de l'âge des parents, du poids de l'œuf, du temps de stockage, de la température d'incubation et de l'humidité relative. [8]

## J2. L'éclosion proprement dite

Elle correspond à la fin du développement embryonnaire. Les événements principaux sont : la mise en place de la respiration pulmonaire, le bêcheage et l'éclosion proprement dite, la maturation et l'entrée en activité des muscles, les changements de la circulation sanguine et la résorption du sac vitellin, constituent les étapes critiques qui conditionnent la survie périnatale de l'embryon [3].

### - La respiration pulmonaire

Elle commence vers la fin du 19<sup>e</sup> jour, quand le poussin perce la poche d'air avec son bec. Elle se substitue rapidement à celle assurée par l'allanto-chorion. La circulation sanguine se modifie complètement et progressivement grâce à la fermeture de certains points [4].

### - Le bêcheage

Il intervient au gros bout de l'œuf, au niveau de la chambre à air. Le bêcheage est déclenché par la demande en oxygène des poussins, cette demande ne pouvant plus être satisfaite par la diffusion. Afin de ne pas suffoquer, le poussin met sa tête au dessus de ses pattes et pousse son bec dans la poche d'air pour commencer la respiration pulmonaire. Cette ouverture initiale lui donne accès à une quantité limitée d'oxygène, lui permettant de

poursuivre ses efforts. Une petite excroissance dure se développe au bout de son bec qui lui permet de casser la coquille, cette excroissance disparaîtra quelques jours après sa naissance [12, 17].

#### - L'éclosion

L'éclosion proprement dite se situe 3 à 4 heures plus tard [après une phase de repos relatif]. Son déclenchement n'est pas d'origine gazeuse mais sans doute hormonale ; le découpage de la coquille est essentiellement assuré par l'activité d'un muscle dit redresseur de la tête [3].

#### - L'évolution de la vésicule vitelline

Simultanément [entre le 19<sup>e</sup> jour et 14 heures avant l'éclosion], la vésicule vitelline est progressivement incluse dans la cavité abdominale. Elle renferme 5g environ de jaune qui seront utilisés par le poussin en deux jours ; sa disparition est achevée 5 jours après l'éclosion [12].

L'éclosion ne pose pas de problèmes particuliers de digestion, celle-ci est opérationnelle dès le 15<sup>e</sup> jour ou 16<sup>e</sup> jour d'incubation du fait que le jabot et le gésier sont matures et il semble que toutes les enzymes digestives soit également présente. Par contre la régulation thermique du poussin n'est pas possible sans un apport de calories [17].

### K. Le poussin

Les premières heures dans la vie d'un poussin sont très importantes pour sa viabilité et ses performances pendant la période de croissance. Après l'éclosion les conditions climatologiques peuvent affecter sérieusement la vitalité du poussin, car il n'est pas capable de régulariser sa température pendant les 3-4 premiers jours de sa vie [18].

#### K.1. Les premiers soins

Dès la sortie de l'œuf la désinfection du nombril est absolument nécessaire pour éviter une infection du vitellus et un risque de septicémie conduisant à la mort car le poussin n'a pas encore un système immunitaire suffisamment développé.



Une fois né, le poussin restera dans l'éclosoir sans boire ni manger pendant 2 à 5 jours. Cette période de diète permettra au poussin d'assimiler le vitellus [3].

## K.2. Tri des poussins et évaluation de leur qualité

Le plus grand défi pour le couvoir est de produire des poussins uniformes d'une grande vitalité. Cette procédure décrit la méthode Pasgar-Score qui vise à évaluer les conditions d'incubation mais semble peu prédire les performances futures. Cette méthode consiste à :

- Prélever au hasard une cinquantaine de poussins pour chacune des origines.

- Évaluer les paramètres suivants :

\* Vitalité du poussin :

- Couché sur le dos, il se redresse immédiatement [Score : 0] ;

- Il met plus de 3 secondes à se redresser [Score : 1] ;

\* Ombilic :

- L'ombilic du poussin est normal lorsqu'il est complètement fermé et

Tout le vitellus est absorbé [Score : 0] ;

- Si l'ombilic est ouvert et/ou qu'il comporte des croûtes noires

[Score : 1] ;

\* Articulations :

- Les articulations ne sont pas enflées et ont une couleur normale

[Score : 0] ;

- Les articulations sont gonflées et/ou rouges [Score : 1] ;

\* Bec :

- Le bec est propre et les narines sont fermées [Score : 0] ;

- Le bec est souillé et/ou présente un Point rouge [Score : 1] ;

\* Abdomen :

Le volume de l'abdomen dépend de celui du vitellus et est essentiellement lié à la température et humidité d'incubation.

- Abdomen souple [Score : 0] ;

- Abdomen dur, peau tendue [Score : 1] ;

- Noter les scores pour chacun des paramètres et chaque poussin.

- Pour chaque individu, additionner les différents scores et les déduire de la note maximale de 10.

- Calculer la moyenne.

- Des conditions optimales d'incubation doivent pouvoir permettre d'atteindre un score moyen de 9 au minimum. [16,18, 19, 24]

Après le tri, plusieurs opérations sont pratiquées sur les poussins d'un jour. Ces interventions concernent particulièrement :

- Sexage : Qui se pratique pour les poussins type ponte et type reproduction. On se base sur l'éversion du cloaque, la coloration du plumage [reproducteur] et emplument à l'aile.

- Vaccination : principalement la maladie de Marek et bronchite infectieuse [8].

### 1.2.3 Le transport des poussins

Une fois les poussins triés, ils vont être transportés aux élevages dans des boîtes cartonnées à trous moyens pouvant contenir entre 70 et 80 dans laquelle on disposera de la paille broyée ou de filasse industrielle.

Il est à noter que si le transport est long et que la température extérieure est élevée, il est préférable de disposer dans des boîtes des poussins à peine secs. Il faut favoriser une bonne circulation de l'air dans les camions de transport tout en évitant une forte ventilation qui favoriserait une déshydratation des poussins. Ne surcharger pas les boîtes de transport

ça pourrait favoriser le tassement et l'écrasement. En revanche, ne déposer jamais peu de poussins dans une boîte de transport car ils seront exposés alors à un refroidissement trop important et une mortalité pouvant atteindre 100% [3, 17].

#### 1.2.4 Les problèmes des premiers jours

##### A. Omphalite et inflammation du sac vitellin

L'omphalite est l'une des premières causes de mortalité chez les poussins ; caractérisé par l'inflammation de l'ombilic souvent accompagnée de l'inflammation du sac vitellin due à la relation anatomique étroite [20].

##### B. Stress

Un refroidissement, des courants d'air, une humidité excessive, un manque de lumière, un manque de place, peuvent être la cause du stress [3].

##### C. Le syndrome de l'ascite

C'est une accumulation de liquide œdémateux à l'intérieur de la cavité abdominale et autour du cœur. Ce syndrome est le plus souvent une conséquence de l'augmentation de la pression sanguine dans le foie et dans le système veineux, suite à une défaillance du ventricule droit du cœur, en conditions hypoxiques [21].

##### D. Malformations des doigts

La cause principale des déformations des doigts-torsion du doigt vers l'intérieur est le mauvais équilibre de la ration alimentaire donnée aux parents, et surtout une carence en vitamine B12. La torsion du doigt vers l'extérieur ou vers l'intérieur peut être due au contact avec une surface glissante, le doigt repose alors sur sa surface latérale.

Parfois cette déformation apparaît si le poussin est très gros à la naissance et se met à marcher trop tôt sur une surface glissante. [8]

#### E. Déformation des os

La torsion et la déviation des pattes, les genoux élargis, le déplacement du tendon et la faiblesse des pattes, sont les manifestations du syndrome de la jambe en arc.

Le déséquilibre de l'alimentation des parents (mauvais rapport Ca/P), une alimentation trop riche en protéines, une mauvaise absorption du manganèse et du zinc sont à l'origine de ce syndrome [21].

#### F. Infections respiratoires

Sont provoquées par le stress et une température trop basse qui rendent le poussin plus réceptif aux germes [3].

#### G. Entérite à bactérie Gram négatif et septicémie

La diarrhée suivie de déshydratation sont les premiers symptômes provoqués par les Salmonelles. D'autres bactéries sont responsables d'entérite, comme certaines souches d'*Escherichia coli* ou *Pseudomonas aeruginosa*. Le traitement curatif arrive souvent trop tard et l'issue est fatale [3, 23].

## CHAPITRE 2

### HYGIENE ET MAITRISE DES INFECTIONS AU COUVOIR

Le couvoir joue un rôle très important dans la chaîne de production des volailles en assurant la collecte des œufs à couvrir provenant des élevages de reproductrices et la vente de poussins fraîchement éclos aux élevages avicoles commerciaux. Cependant, les conditions régnant dans son intérieur (température, humidité et matières organiques) font de ce maillon une source de multiplication et de contamination qui impliquent une variété d'agents infectieux dont certains sont capables de causer des maladies dans les élevages de volailles et passer par la suite aux consommateurs des produits avicoles [36]. Ainsi, le couvoir doit être conçu de manière à en limiter l'introduction, la manipulation et la propagation.

#### 2.1 L'implantation

##### 2.1.1 La Situation

Le choix d'un emplacement géographique approprié et isolé facilite l'application des mesures d'hygiène et de prophylaxie. Le bâtiment doit être aussi éloigné que possible des autres bâtiments qui abritent en particulier du bétail et des volailles, de tout axe routier où, circulent beaucoup de camions de volailles ou à proximité des champs des voisins ayant la possibilité d'épandre du fumier ou du lisier (Pour limiter les contaminations aériennes). L'idéal est de le construire à l'écart de tout voisinage pouvant le gêner ou être gêné par lui et, dans un endroit qui permet la circulation d'air dans une seule direction. La facilité d'accès est aussi un critère à ne pas omettre [7, 83].

Les erreurs de conception en termes de localisation et choix du site ne peuvent jamais être corrigées ou modifiées par la suite en réponse au danger d'émergence de nouvelles maladies.

### 2.1.2 Les abords

L'aire entourant immédiatement le couvoir doit être exempte de végétation et de débris, et si possible, être recouverte de béton ou d'un matériau similaire facile à nettoyer et à désinfecter.

Pour éviter la rétention de poussières contaminantes, il faut supprimer les arbres, les buissons et tous les objets entreposés.

Il faut également éviter toute formation d'eaux stagnantes qui constituent un véritable bouillon de culture pour les micro-organismes et un élément d'attraction des oiseaux sauvages et des rongeurs sources de contagion [25].

### 2.1.3 Agencement et organisation des secteurs fonctionnels

Le couvoir est conçu en salles séparées et est sectorisées en 3 zones (Figure 2.1):

#### A. La zone propre

Où se déroulent toutes les activités concernant les œufs, de leur réception jusqu'aux incubateurs (Salle de tri des œufs, stockage des œufs, préchauffage et incubation).

#### B. La zone sale

Inclut l'éclosion et le stockage des poussins (salles d'éclosion, de tri, d'expédition et de lavage/désinfection du matériel).

#### C. La zone intermédiaire

Dite aussi de transfert, elle est considérée alternativement comme zone propre puis sale et elle joue un rôle de tampon car après son statut de zone sale pendant toute la durée du transfert, elle est alors nettoyée pour réintégrer le statut de zone propre. [4, 26, 38].

En effet, l'accroissement du nombre de germes s'observe surtout dans les dernières heures de l'éclosion. La partie éclosion du couvoir est donc plus propice à la multiplication

et à la dispersion des éventuels germes contaminants. De là vient l'importance du cloisonnement entre la partie propre et la partie sale du couvoir.

Les déchets du couvoir seront stockés dans un SAS accessible de l'extérieur par une trappe ou dans des bacs d'équarrissage étanches puis ils seront éliminés par des portes spéciales ou des systèmes automatisés.

Il est préférable de disposer de plusieurs salles d'éclosion correspondant chacune à une journée d'éclosion pour faciliter leur désinfection et minimiser les contaminations croisées [38].

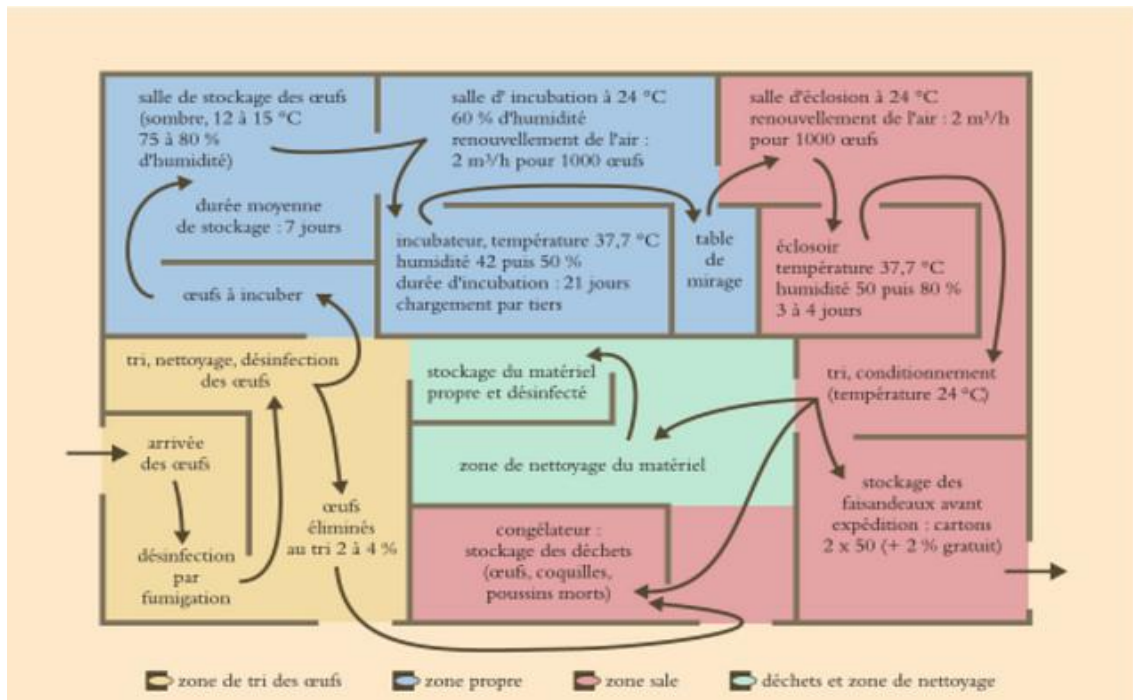
## 2.2. La circulation

Le couvoir est le point de rencontre d'une quantité importante d'œufs provenant de différentes fermes, de différents poulaillers et d'animaux d'âges différents. Les statuts sanitaires de ces diverses entités sont souvent variés ; de cela la circulation dans le couvoir se fait dans un sens établi et unique allant de la zone propre à la zone sale, sans possibilité de retour en arrière, et ce pour éviter tout entrecroisement entre les œufs et les poussins [12, 39].

L'entrée des œufs et les sorties des poussins se feront par des SAS pour empêcher l'entrée de toute personne étrangère. Ce principe de marche en avant s'appliquera aussi (Figure 2.1):

- Au matériel de manière à éviter tout entrecroisement entre matériel souillé et matériel lavé et désinfecté ;
- Au personnel [personnel spécialisé par poste de travail]. Le retour en arrière s'accompagne obligatoirement par une douche et un changement de tenue ;
- A l'air, l'eau et les déchets [40].

Il est à signaler que ce principe est profondément influencé par la structure du couvoir et son agencement ou aménagement intérieur.



**Figure 2.1 :** Organisation des secteurs fonctionnels d'un couvoir [12].

### 2.3 L'assainissement

Les canalisations d'évacuation des eaux usées doivent être d'une pente et d'un diamètre suffisants pour permettre :

- Une élimination rapide des eaux usées ;
- Une bonne aération afin d'éviter toute fermentation anaérobie génératrice de mauvaises odeurs.

Ces canalisations, doivent être équipées de siphons pour empêcher la remontée des rongeurs et de «paniers» aux accès pour récupérer les déchets [41, 42].

### 2.4 La ventilation

Les flux d'air sont des vecteurs importants d'agents pathogènes, ces derniers peuvent être disséminés dans les différentes zones. Les microorganismes aéroportés étant souvent attachés aux particules de poussières ou de duvet.



Nichols et Leaver (1967) [43] ont observé que le duvet prélevé au moment de l'éclosion était composé de 58% de bactéries totales, 9% de coliformes et 3% de champignons, avec des seuils de contamination de l'ordre de  $10^6$  UFC/g. Le duvet constitue donc la source principale de contamination bactérienne horizontale des poussins.

De plus, selon Skorska (2007) [44] les micro-organismes de surface des œufs à couver peuvent être facilement disséminés dans l'éclosoir par des mouvements de l'air pendant l'éclosion, et engendrer une contamination horizontale des poussins.

La ventilation doit donc être conçue pour limiter tout risque d'introduction d'air extérieur contaminé et pour empêcher la dissémination des agents pathogènes dans les différentes zones, tout en permettant un approvisionnement constant des différents locaux et appareils en air neuf indispensable pour leur bon fonctionnement [45].

Des recherches ont prouvé l'efficacité d'un système de réduction des poussières en suspension dans l'air « précipitation électrostatique et ionisation négative » qui nettoie l'air par transfert d'une forte charge électrostatique ; Mitchell et Waltman (2003) [46] ont obtenu en couvoir des réductions de poussières aéroportées de 77 à 79%, d'entérobactéries de 93% à 96% et de Salmonelles de 33 à 83%.

Dans le cas général, et pour que le couvoir soit bien protégé :

- Il faut installer des pré-filtres et des filtres à l'entrée de l'air, soit pour un simple dépoussiérage [filtres à 50  $\mu\text{m}$ ], soit une véritable barrière antimicrobienne [filtre à 10  $\mu\text{m}$ ] ;
- Il faut avoir une pression suffisante [surpression] pour permettre une circulation de l'air toujours du secteur propre vers le secteur sale ;
- Le différentiel de pression  $P$  doit être tel que  $P_{\text{incubation}} > P_{\text{éclosion}} > P_{\text{tri des poussins}}$ :
  - \* 4 mm de colonne d'eau en salles d'incubation ;
  - \* 2 mm de colonne d'eau en salle d'éclosion ;
  - \* 1 mm de colonne d'eau en salle de tri des poussins.

- Les prises d'air doivent être plus éloignées des extractions d'air et en particulier de l'extraction des zones de poussières qui doivent se trouver sous le vent dominant.
- La toiture doit être équipée de gouttières connectées au système d'évacuation des eaux usées pour éviter la contamination de l'air aspiré par les poussières déposées sur cette dernière [27, 45].

## 2.5 Le sol, les parois et le plafond

Ils doivent impérativement être faits en matériaux permettant un nettoyage et une désinfection efficaces. Les sols sont carrelés ou en ciment lisse [ex: ciment quartz] et les murs lisses. Un entretien régulier de ces surfaces est indispensable. Les sols permettront d'éviter la stagnation des eaux usées qui seront aussi tôt éliminées. Un plan d'entretien des siphons et canaux d'évacuation est défini. Il est conseillé de raccorder par arrondis les murs entre eux ainsi que le sol et les plafonds [38].

## 2.6 Approvisionnement en eau

L'eau est le premier aliment des volailles. Elles boivent 1.8 fois plus qu'elles ne mangent ; donc l'eau doit être de qualité microbiologique satisfaisante.

L'approvisionnement en eau d'une certaine qualité est indispensable ; cependant les normes microbiologiques suivantes doivent être scrupuleusement respectées :

- Bactéries aérobies revifiables :

A 37 °C et après 24 h 00 :  $\leq 20$  par ml d'eau prélevée ;

A 22 °C et après 72 h 00 :  $\leq 100$  par ml d'eau prélevée ;

- Anaérobies sulfito-réducteurs :  $\leq 1$  spore pour 20 ml d'eau prélevée ;

- Coliformes thermo-tolérants : absence dans 100 ml ;

- *Streptocoques* fécaux : Absence dans 100 ml ;

- Coliformes totaux : Absence dans 100 ml d'eau ;

- *Staphylocoques* pathogènes : Absence dans 100 ml d'eau ;
- *Salmonelles* : Absence dans 2 l d'eau prélevée. [28, 38]

## 2.7 Le sas sanitaire

Le couvoir doit disposer de SAS de changement des vêtements, douches, lavabos, essuies mains jetables, le SAS représente une barrière de sécurité sanitaire destinée à protéger le couvoir contre le facteur de risque humain, il est maintenu constamment propre. Un nettoyage à la fin de chaque journée de travail est préconisé.

Il faut prévoir des vêtements pour chaque zone : des chaussures, des charlottes pour les cheveux, des masques anti-poussières pour les personnes allergiques au duvet [40].

## 2.8 Hygiène des œufs à couvrir au couvoir

La désinfection des œufs à couvrir consiste à les soumettre à une formolisation. Les vapeurs de formol sont utilisées, depuis de nombreuses années, pour la désinfection des œufs à couvrir et de l'équipement du couvoir. Utilisées comme fumigènes, ces vapeurs se sont révélées très efficaces pour détruire les micro-organismes se trouvant sur la coquille. Ils seront ensuite stockés dans une salle entre 15 et 18°C. Sous certaines conditions, le lavage des œufs avant mise en incubateur peut être envisagé [10].

## 2.9. Hygiène du couvoir (nettoyage/désinfection)

Il s'agit des rythmes et des modalités de nettoyage/désinfection du couvoir dans sa pratique quotidienne.

### 2.9.1 Les incubateurs

Un suivi du programme de nettoyage des incubateurs est à assurer. Il est bon de prévoir un vide sanitaire périodique des incubateurs, par salle d'incubation et par roulement [38].

Les incubateurs doivent être nettoyés chaque semaine après transfert des œufs à éclore (eau + désinfectant : 4 à 5 cm<sup>3</sup> de formol + quantité d'eau évaporable en 24 heures dans une assiette en terre cuite) renouvelés tout les jours [10].

On peut aussi envisager une désinfection continue afin de garder un niveau de pollution très bas. Le liquide désinfectant est nébulisé en humidifiant l'air dans la machine. Il ne faut jamais désinfecter entre la 14<sup>e</sup> et la 96<sup>e</sup> heure d'incubation [30].

Une désinfection ponctuelle sera effectuée au moment de la mise des œufs en incubateur, en laissant l'incubateur prendre sa température, et lorsqu'il est bien stabilisé, on procède à une fumigation de 10cm<sup>3</sup> de formol, 10cm<sup>3</sup> d'eau et 5 cm<sup>3</sup> de permanganate de potassium.

L'incubateur est ensuite, laissé, arrêté durant une demi-heure en gardant la trappe d'aération fermée. Des poussières peuvent s'accumuler rapidement au-dessus et derrière les incubateurs un nettoyage régulier de ces parties est effectué [42].

### 2.9.2 Les éclosoirs

Ils sont plus faciles à nettoyer et à désinfecter que les incubateurs parce qu'ils sont régulièrement vidés.

Après chaque journée d'éclosion, les éclosoirs sont lavés et désinfectés de même que les salles d'éclosion concernées, les dessus des machines, les gaines d'évacuation des poussières et du duvet. Il est préférable de disposer de plusieurs salles d'éclosion, chacune correspondant à une journée d'éclosion permettant une rupture complète avec la journée d'éclosion suivante [30,38].

### 2.9.3 Les salles

Le sol des salles d'incubation est nettoyé, lavé et désinfecté, au minimum, chaque semaine. Les salles d'éclosion le sont entièrement après chaque éclosion.

Les salles de transfert, de tri et d'expédition, les salles de lavage du matériel sont lavées et désinfectées après chaque période de travail. Ceci est également souhaitable pour la salle de tri des œufs ou à défaut au moins une fois par semaine.

Les quais de déchargement des œufs et de chargement des poussins sont à nettoyer après chaque journée d'utilisation.

La désinfection liquide peut être complétée par une désinfection gazeuse ou par aérosol, au moins une fois par semaine [29].

#### 2.9.4 Le matériel

Les casiers d'incubation, d'éclosion, les chariots et tout le matériel utilisé au couvoir doivent être nettoyés et désinfectés après chaque utilisation et en fin rangés.

Les suceuses, utilisées au niveau de la salle de réception des œufs et du transfert entrent directement en contact avec le produit. Elles sont : démonter, nettoyer et désinfecter après chaque période de travail [38, 41].

#### 2.9.5 Les Camions de livraison

Ils sont lavés et désinfectés après chaque utilisation (au moins une fois par semaine) en utilisant les mêmes doses de produits que celles des locaux et appareils vides [41].

La cabine doit être propre et bien entretenue. Les zones difficiles d'accès (introduction d'air et ventilateurs extracteurs) sont à nettoyer régulièrement pour éviter l'accumulation de duvet ancien. Les planchers amovibles doivent être enlevés pour nettoyer le dessous.

Le chauffeur disposera d'une tenue complète pour effectuer ses livraisons. Il doit la changer ou la nettoyer après chaque journée de livraison [38].

#### 2.9.6 Le personnel

Pour le personnel travaillant au couvoir les éléments suivants sont à prendre en considération :

- Dans le sas d'entrée du personnel, une tenue spécifique est revêtue. Une douche peut être prise dans certains couvoirs (ex : couvoirs de sélection).
- Le personnel de maintenance doit respecter le port du vêtement de travail. De même, des kits "pack visiteurs" sont mis à disposition en cas de visite [25, 32].

- Les intervenants extérieurs tels que les opérateurs de sexage, de débecquage ou de maintenance font l'objet de vigilance. En effet, le couvoir s'assure qu'ils ne présentent pas une source de contamination importante en mettant en place des mesures sanitaires (respect des règles d'hygiène) [31].

-l'état de santé de tous les employés, y compris ceux qui manipulent les poussins, doit être surveillé régulièrement [31].

#### 2.10 contrôle de l'hygiène au couvoir

Les contrôles visuels et bactériologiques ont les objectifs suivants :

- Vérifier l'efficacité des procédures de nettoyage / désinfection ;
- Vérifier le respect des procédures en cours ;
- Avoir un état des lieux sanitaire à un moment donné (contrôle de propreté et d'ambiance);
- Intervenir de façon préventive en cas de mauvais résultats.

### 2.10.1 Contrôles visuels

Ils consistent à vérifier et à assurer une surveillance des dispositions mises en œuvre

- S'assurer de la propreté visuelle du couvoir, du rangement du matériel ;
- S'assurer de l'application des instructions définies ;
- Vérifier la traçabilité des actions sanitaires prévues ;
- Vérifier que les enregistrements prévus sont correctement complétés et que les actions correctives ont été mises en œuvre lorsque les résultats ne sont pas satisfaisants.

Ce contrôle sera réalisé de préférence par des personnes ne travaillant pas en permanence dans le couvoir. Ce qui permet d'avoir l'œil extérieur.

La vérification visuelle sera réalisée une fois par semaine au niveau :

- Des salles de réception, de stockage des œufs, d'incubation ;
- Des zones de transfert, éclosions, tri, de stockage et d'expédition.

Un suivi des anomalies relevées est à réaliser. Pour chaque anomalie l'action corrective est mise en place et enregistrée. [38].

### 2.10.2 Contrôle bactériologique

Il se fera à plusieurs niveaux et en collaboration avec des laboratoires. Le couvoir a la responsabilité du prélèvement qu'il devra expédier dans les meilleures conditions au laboratoire qui fera les analyses demandées [33, 36, 38].

#### A. Recherche de la contamination de surface sur les œufs

Les surfaces des œufs pondus dans les fermes ne sont évidemment pas stérile et cela est tout le but de la désinfection des œufs avec des produits chimiques (comme le formol) dans les fermes et à l'arrivée au couvoir pour réduire la contamination autant que possible.

Une surveillance de la surface de la coquille permet de contrôler les contaminations. Elle se fait selon différentes méthodes :

- Faire rouler la surface de l'œuf qui n'est pas touché par les doigts en deux temps sur la surface du milieu de culture, et remettre le couvercle de la boîte délicatement. Cette méthode fonctionne comme un test de dépistage, mais ne fournit pas des informations précises sur le niveau de la contamination ;
- Une autre méthode plus quantitative consiste à mettre en suspension des œufs dans un liquide physiologique et mise en culture de ce liquide.
- Des bandes de ruban stérile peuvent être également utilisées à la place des méthodes mentionnées ci-dessus. La bande mesure (1.8 cm x 1.6 cm) devrait être appliquée à la surface de la coquille, et ensuite enlevée avec précaution et une impression peut être effectuée sur la gélose. Deux impressions par œuf devraient être suffisantes pour estimer le nombre total de bactéries sur la coquille d'œuf. [34, 35, 48]

#### B. Contrôle du duvet

Des échantillons de duvet sont à prélever dans un flacon stérile à large goulot à plusieurs endroits de l'éclosoir, 12 à 18 heures avant la sortie des poussins. Ils sont au minimum de 0.25g et sont envoyés au laboratoire dans les plus brefs délais. Les examens devront se faire dans les 48 heures qui suivent le prélèvement et jamais au delà. Ils donnent un nombre de microorganismes par gramme de duvet [33, 42, 142].

Les recherches bactériologiques peuvent porter sur : les salmonelles, la flore mésophile totale, les coliformes, *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus aureus*, les levures et les moisissures [47].

#### C. Contrôle bactériologique de l'air

C'est la détermination de la pollution microbienne de l'atmosphère du couvoir par dénombrement des colonies sur gélose standard à l'aide d'un appareil spécial qui permet une détection optimale des germes et une mensuration du taux de pollution de l'atmosphère et de l'efficacité de la désinfection [42].



En cas de non disponibilité de cet appareil, on peut faire recours à une technique plus simple et plus rapide qui consiste à exposer à l'air libre, pendant un temps fixe (10 mn), des boîtes de Pétri contenant des milieux sélectifs ou non [49]. La lecture des résultats se fait après 24 heures d'incubation à 37°C pour la flore aérobique mésophile totale [sur gélose TSA] et après 120 heures d'incubation à 37°C sur milieu de Sabouraud pour les levures et moisissures. [50] .Après dénombrement des colonies, les résultats seront appréciés selon les normes de SADLER (1975) [51] (Tableau 2.1).

**Tableau 2.1** : Normes de Sadler (D'après Tber et al., 1994) [49].

Type de germe	Nombre de colonies	Appréciation
<b>Flore mésophile aérobique totale</b>	0 à 15	Excellent
	16 à 36	Bon
	37 à 57	Assez bon
	58 à 76	Moyen
	77 à 96	Mauvais
	>97	Très mauvais
<b>Champignons</b>	1 à 3	Excellent
	4 à 6	Assez bien
	7 à 10	Passable
	10 à 12	Mauvais
	>13	Très mauvais

#### D. Contrôle par prélèvement de surface

La recherche porte sur différents germes en fonction des objectifs du couvoir. Par exemple la flore totale, les coliformes, les streptocoques, *Pseudomonas*, *Aspergillus*, les salmonelles...

Les lieux et les fréquences sont établis par le couvoir en fonction des points à risques, par exemple :

- Une fois tous les deux mois : dans les salles de réception et de stockage des œufs, et les salles d'incubation ;

- Une fois par mois dans les zones transfert, éclosier, zone de tri, de stockage et d'expédition [38].

La synthèse des résultats est communiquée au personnel du couvoir. Des mesures correctives seront mises en œuvre en cas de mauvais résultats.

De nombreuses méthodes de récupération et de mise en culture des contaminants des surfaces sont utilisées :

- Le lavage de la surface avec un liquide de survie des germes. Le rinçage se réalise au moyen d'un pistolet-laveur qui permet la récupération des germes après un lavage de 25 cm<sup>2</sup> de surface par 40 ml de liquide de survie recyclés pendant 30 secondes [52].

La solution est récupérée est filtrée sur membrane qui est ensuite déposée à la surface d'un milieu gélosé [53].

- L'écouvillonnage :

\* *Ecouvillon (coton sec ou humide, alginate)*

Le frottis est réalisé à l'intérieur d'un cadre métallique d'une surface connue. Le geste est codifié : degré d'inclinaison de l'écouvillon, pression constante, schéma du balayage de la surface. L'écouvillon est alors récupéré dans un liquide de survie qui sera filtré sur membrane et cultivé comme décrit précédemment [33, 36].

\* *Ecouvillonnage à l'aide de chiffonnettes (pour la recherche des salmonelles) :*

Le prélèvement se fera en passant simplement la chiffonnettes sur la surface à contrôler. Les chiffonnettes seront en suite mises dans des bocaux ou des sachets [54].

- Le grattage par des moyens mécaniques (brossage) :

La surface est brossée mécaniquement avec une brosse disposée dans un diluant. La Solution est récupérée est filtrée sur membrane qui est ensuite déposée à la surface d'un milieu gélosé [53] ;

- Recouvrement directe de la surface par une gélose nutritive ;

- La technique d'impression d'un milieu gélosé sur la surface (Boite de contact type Rodac : Replicate Organism Detection and Counting).

Des boites de Pétri de 55mm de diamètre comportant un ménisque de gélose favorable au développement des micro-organismes sont mises en contact avec la surface à tester pendant un laps de temps donné et avec une pression constante à la limite de l'écrasement (pression de 500g) [55].

- Prélèvement par Petrifilm

La méthode d'utilisation est aussi simple que celle des boites de contact.

- Prélèvements par lames gélosées ;

- ATP-mètrie

C'est la seule technique permettant une réponse en quelques minutes. Plusieurs firmes commercialisent des ATP-mètres portables.

- Prélèvement par ruban adhésif

Les rubans adhésifs du commerce peuvent être considérés comme stérils ; après avoir été appliqués sur la surface, le ruban sera appliqué sur un milieu gélosé.

Parmi toutes ces techniques, les plus employées sont la technique du frottis par écouvillonnage et celle d'impression ou de contact qui sont préférées pour des recherches qualitatives et semi-quantitatives [48, 56].

#### E. Examen bactériologiques des poussins de 2<sup>e</sup> choix

Envoyer au laboratoire des poussins de 2<sup>e</sup> choix (10 poussins) provenant des différents éclosiers et des différents troupeaux est une technique complémentaire des méthodes précédentes car très onéreuse [47].

## 2.11 Maitrise des risques sanitaires au couvoir

Les risques relatifs à chaque phase du processus de production sont recensés depuis l'entrée de l'œuf au couvoir jusqu'à l'installation du poussin.

Il appartient à chaque couvoir de recenser les risques et de définir les actions à mener (selon la méthode HACCP : Hazard Analysis Critical Control Point).

Selon le Syndicat national des acouveurs (2003) [38], les risques sanitaires par phase de production et les actions correctives à mener sont les suivants :

### 2.11.1 Stockage des œufs

#### A. Risques sanitaires

- Manque de propreté du quai de débarquement des œufs ;
- Arpentage de la salle par le chauffeur/ramasseur afin de rassembler le matériel nécessaire à sa tournée ;
- Manque de propreté de la salle, des containers d'œufs, des alvéoles ;
- Pas de désinfection des œufs ;
- Mauvaise qualité bactériologique de l'eau de lavage ;
- Mauvaise traçabilité des œufs ;
- Non-application des mesures relatives aux œufs importés.

#### B. Actions à mener

- Contrôles bactériologiques et mycologiques de la salle, du matériel une fois tous les deux mois ;
- Identification des œufs après désinfection ;
- Analyse semestrielle de l'eau [si hors réseau public] ou annuelle [si réseau public] ;

- Identification des œufs par parquet d'origine, identification des œufs pondus au sol ainsi que des œufs provenant d'un parquet suspect par *salmonelle* ou *mycoplasme* ;
- Marquage des œufs importés, contrôles de désinfection de la salle de réception et du camion avant et après transport.

### 2.11.2 Gestion du stock d'œufs

Les actions à mener sont :

- Le marquage des lots d'œufs par parquet, par date de ponte ;
- Le contrôle bactériologique des surfaces tous les mois ou deux mois en fonction du lieu.

### 2.11.3 Programmation de l'incubation

#### A. Risques sanitaires

- Mauvaise identification ;
- Utilisation d'œufs ne répondant pas aux normes sanitaires ;
- Œufs sales ;
- Contamination d'œufs sains par des œufs porteurs de *salmonelle* ou *mycoplasme* lors de l'incubation ;
- Contamination d'œufs sains par des œufs d'importation ;

#### B. Actions à mener

- Désignation des lots à charger : n° troupeau, date de ponte, nombre ;
- Contrôles sanitaires des parquets reproducteurs ;
- Incubation à part pour les œufs provenant d'un parquet suspect pour salmonelle ou mycoplasme ;

- Incubation à part pour les œufs importés.

#### 2.11.4 Mise sur plateaux d'incubation

##### A. Risques sanitaires

- Manque de propreté de la salle et du matériel (sucours) de mise sur plateaux et des chariots d'incubation ;
- Manque de propreté du personnel (lavage des mains, tenue adéquate, mélanges d'œufs provenant de parquets de reproducteurs de statuts différents).

##### B. Actions à mener

- Contrôles visuels et /ou bactériologiques et mycologiques de la salle, du matériel ;
- Marque spécifique des tenues “secteur propre”;
- Identification des casiers par parquet et date de production.

#### 2.11.5 Préchauffage

##### A. Risque sanitaire

- Manque de propreté de la salle de préchauffage.

##### B. Action à mener

- Contrôles visuels et/ou bactériologiques et mycologiques de la salle.

#### 2.11.6 Incubation

##### A. Risques sanitaires

- Circuits ne respectant pas la marche en avant ;

- Manque de propreté de la salle, des machines ;
- Manque de propreté du personnel (lavage des mains, tenue) ;
- Non-application des mesures relatives aux œufs importés ;
- Fréquence insuffisante des vides sanitaires en incubateur à chargement multiple.

#### B. Actions à mener

- Contrôles visuels et/ou bactériologiques et mycologiques de la salle, des machines une fois tous les deux mois ;
- Tenue spécifique “secteur propre” ;
- Accès réservé à des employés déclarés à la Direction des Services Vétérinaires pour les incubateurs contenant des œufs importés ;
- Contrôle du respect des durées et des fréquences minimales de vide sanitaire ;
- Enregistrement de la localisation en machines de chaque lot par troupeau chargé.

#### 2.11.7 Transfert

##### A. Risques sanitaires

- Communication avec salles d’éclosoirs contenant des poussins ;
- Contamination du système de transfert par des œufs de mauvaise qualité (*Pseudomonas*, *Aspergillus*) ;
- Allées et venues des personnels ;
- Salle, machine de transfert, plateaux et chariots d’éclosion, personnel ;
- Perte de l’identification au transfert ;
- Risque de dispersion des lots suspects dans plusieurs éclosoirs ;

### B. Actions à mener

- Transfert des lots par période de travail du moins “problématique” au plus “risqué” ;
- Extrême propreté de la salle à chaque début de période de travail ;
- Etanchéité de la salle pendant le travail (mouvements, air, personnel) ;
- Contrôles bactériologiques et mycologiques de la salle, des machines une fois par mois ;
- Désinfection des systèmes d’aspiration (suceuse) par un procédé approprié (aspersion ou trempage) ;
- Désinfection ou remplacement du système de transfert après passage d’œufs souillés ;
- Respect des procédures de vaccination in ovo.

### 2.11.8 Eclosion

#### A. Risques sanitaires

- Perte de l’identification du lot à la sortie / tri ;
- Manque de propreté de la salle, des machines ;
- Manque de propreté du personnel (lavage des mains, tenue) ;
- Non-application des mesures relatives à l’éclosion d’œufs importés ;
- Non-application des mesures d’isolement des lots suspects ;
- Absence de maîtrise des flux d’air en sortie éclosion.

#### B. Actions à mener

- Ouverture des salles et des éclosiers du moins contaminé au plus contaminé ;
- Interruption de sortie entre lots et comptage ;



- Contrôles bactériologiques et mycologiques de la salle, des machines une fois par mois ;
- Tenue spécifique “secteur souillé” ;
- Contrôle de l’éclosion séparée des poussins issus d’œufs importés ;
- Prélèvement des fonds de casiers pour suivi laboratoire.

#### 2.11. 9 Tri / Sexage / Vaccination

##### A. Risques sanitaires

- Manque de propreté de la salle, du matériel ;
- Manque de propreté du personnel (pas de lavage des mains, tenue inadéquate) ;
- Manque d’identification des poussins par origine.

##### B. Actions à mener

- Présence de poussins de la veille ;
- Contrôles bactériologiques et mycologiques de la salle, du matériel une fois par mois ;
- Marquage spécifique des tenues “secteur souillé”;
- Contrôles bactériologiques et mycologiques “de routine” des poussins (germes pathogènes, *Salmonelles*, *Aspergillus*), contrôles spécifiques lorsque le parquet est suspect, voire confirmé en *mycoplasme* ou *salmonelle*.

#### 2.11. 10 Stockage / Expédition

##### A. Risques sanitaires

- Manque de propreté de la salle, des camions, du personnel ;
- Manque de suivi d’identification des parquets d’origine lors de la constitution des lots livrés ; retour d’emballages.

**B. Actions à mener**

- Contrôles bactériologiques et mycologiques de la salle et du matériel une fois par mois ;
- Contrôle de la propreté des camions.

## **CHAPITRE 3**

### **L'OMPHALITE**

#### **3.1 Introduction**

L'omphalite et l'inflammation du sac vitellin sont les deux causes les plus couramment responsables de mortalité chez les poussins pendant la première semaine de leur vie. L'omphalite est caractérisée par l'inflammation de l'ombilic qui est souvent accompagnée de l'inflammation du sac vitellin est ce en raison de leur relation anatomique étroite [57,196].

Puisque l'embryon aviaire n'a pas une connexion physique à la poule, l'ensemble de ses besoins nutritifs (à l'exception de l'oxygène) doit être contenu dans l'œuf. Dès le début, l'embryon se développe à l'extérieur et des membranes spéciales lui apporteront les nutriments de l'œuf nécessaires à ses différentes fonctions physiologiques essentielles. L'une de ces membranes est le sac vitellin, enveloppe du jaune de l'œuf qui sert de source de nourriture pour le développement de l'embryon [58].

Aux environs du 19<sup>e</sup> jour d'incubation, le sac vitellin commence à s'intérioriser dans le corps de l'embryon à travers l'ombilic. Idéalement, lors de l'éclosion, le sac vitellin devrait être entièrement introduit dans l'abdomen (au niveau de l'ombilic) avec la peau environnante le nombril complètement fermé et cicatrisé [58, 60].

Cependant, ce n'est pas toujours le cas. Quand le sac vitellin n'est pas complètement internalisé, il empêche le nombril de se refermer correctement ; par conséquent le nombril non cicatrisé peut servir de point d'entrée pour les différents contaminants de l'extérieur [20, 58].

Un nombril mal cicatrisé est caractérisé par la formation du bouton-nombril (Figure 3.1) sur le quel de petites croutes noirâtres peuvent se former. Plusieurs causes en sont responsables, telles que :

- Les températures trop élevées, en particulier au cours des derniers jours du cycle de l'incubation qui entraînent l'apparition du « bouton noire » du nombril ;

- Les températures trop faibles pendant les derniers jours d'incubation vont produire des nombrils mal fermés ;
- Une trop forte humidité durant l'incubation, entraîne une perte insuffisante du poids du sac vitellin, par conséquent le sac vitellin résiduel reste élargi, ce qui empêche le nombril de se fermer correctement ;
- Inversement, lorsque l'humidité est trop basse, le sac vitellin se déshydrate, devient dur, et endommage les tissus sensibles autour du nombril ;
- Quand les œufs sont stockés durant des périodes prolongées avant l'incubation, plusieurs poussins avec des croutes noires sur le nombril sont observés au moment de l'éclosion, ce qui signifie un ombilic non cicatrisé [59, 61].

Selon les résultats de Fassenko et O'dea (2008) [62], les poussins avec le bouton-nombril sont plus susceptibles de mourir au cours de la période de production que les poussins avec un nombril complètement cicatrisé.



**Figure 3.1** : Le bouton noir [63].

### 3.2 Etiologies des omphalites chez les poussins

Un ombilic mal cicatrisé représente la porte d'entrée de plusieurs agents pathogènes causant l'inflammation de la région du nombril. Plusieurs bactéries dont *Eschérichia coli*, *Salmonella spp*, *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Enterococcus spp*, *Pseudomonas spp* et *Clostridium spp* ont été isolées du sac vitellin de poussins infectés. Toute fois *Escherichia coli* reste le pathogène le plus fréquemment incriminé [64, 65, 66 ,67].

La contamination par ces bactéries peut survenir à trois niveaux différents : aux élevages de reproductrice, au couvoir ou aux élevages de production de poulets de chair ou de poules pondeuses [64, 68].

### 3.2.1 Contamination des œufs à couvrir au niveau des élevages des reproductrices

À cette phase de la production les risques sont les suivant :

- Transmission verticale de certains agents pathogènes tels que les salmonelles de la poule reproductrice aux œufs ;
- Manque d'hygiène des nids ;
- Présence d'œufs sur sol peu de temps après leur ponte alors que la cuticule est encore humide. Une fois refroidi, les germes présents sur la coquille pénètrent à l'intérieur de l'œuf par phénomène d'aspiration ;
- Le non respect des mesures hygiéniques lors du ramassage des œufs à couvrir ;
- Collecte, conditionnement et stockage des œufs sales et des œufs propres ensemble ;
- Stockage des œufs dans de mauvaises conditions (Hygiène, température et humidité) ;
- Transport des œufs dans des camions qui n'ont subi aucune désinfection et qui sont utilisés à d'autres fins. [69,70]

### 3.2.2 Contamination au niveau du couvoir et des élevages de production

Les facteurs de risque à ces deux niveaux sont :

- L'incubation d'œufs sales ou présentant des défauts de coquille (fêlés) avec des œufs propres et intacts ;
- Le manque d'hygiène dans les incubateurs et les éclosiers en raison d'une mauvaise désinfection ;
- Le non respect du principe de la marche en avant ;
- Une humidité élevée favorisant l'inflammation du sac vitellin ;

- Le non suivi des mesures d'hygiène par le personnel manipulant les œufs et les poussins ;
- Le transport des poussins dans des camions non désinfectés préalablement ;
- La désinfection incorrecte des bâtiments d'élevage laissant l'opportunité aux germes résiduels de la bande précédente de se multiplier et de contaminer les oiseaux nouvellement introduits ;
- La mauvaise application des principes de la biosécurité permettant l'introduction des germes dans les poulaillers durant le démarrage de la nouvelle bande de poussins. [64, 65, 68, 70].

### 3.3. Les pertes économiques liées aux omphalites

L'omphalite est la principale cause infectieuse de mortalité des poussins au cours de la première semaine post-éclosion. Les pertes économiques qui en découlent sont considérables et ne se limitent pas au couvoir car elles peuvent s'étendre aussi aux élevages.

Ainsi, des taux de mortalité de poussins d'environ 5% à 10% [67] peuvent être enregistrés, associés à une diminution du taux d'éclosion et une augmentation du taux de réforme en élevage en raison du retard de croissance observé chez les poussins ayant échappé à la mort [64, 68].

En outre, ces pertes peuvent être graves avec d'importantes conséquences entre autres, la privation de nutriments et d'anticorps maternels avec une immunodépression résultante. Les poussins qui survivent sont souvent rabougris et peuvent disséminer les germes dans l'élevage et contaminer les poussins sains [20].

### 3.4 Les aspects symptomatique et lésionnel de l'omphalie du poussin

Les poussins affectés apparaissent généralement normaux, mais quelques heures avant la mort, commence à apparaître les premiers signes, caractérisés par la dépression et la tête pendante. Les poussins malades commencent à se blottir autour des sources de chaleur et leurs nombrils ne sont pas complètement fermés, deviennent rouges, humides et

enflammés. Des croûtes noires « Bouton noir » peuvent être présentes sur le nombril. Dans les cas graves, la paroi du corps et la peau recouvrante sont touchées et peuvent se lyser ce qui donnent aux poussins un aspect sale et humide [20, 61].

L'examen post-mortem révèle une décoloration autour du nombril, ce dernier est rouge, enflé, œdématié avec la présence parfois d'abcès [20].

Le sac vitellin est généralement distendu parce qu'il n'a pas été absorbé, les vaisseaux sanguins qui l'entourent sont hyperhémiques. Son contenu est jaune concentré ou jaune brun aqueux avec une odeur fétide [61].

Si le poussin vit plus longtemps que quelques jours, l'infection devient systémique avec péricardite et périhépatite. Autres changements pathologiques non spécifiques (tels que l'amaigrissement, goutte viscérale et vésicule biliaire distendue) peuvent être observés [20].

### 3.5 Traitement

Malheureusement, il n'y a pas de traitement spécifique pour l'omphalite et l'inflammation du sac vitellin. L'utilisation d'antibiotiques peut être recommandée dans certains cas, en conformité avec les tests de sensibilité, mais elle est probablement de peu de valeur [20].

Une étude expérimentale faite par ASHRAF (2002) [71], a démontré l'efficacité d'une autre méthode -très onéreuse malheureusement- qui consiste en l'injection des antibiotiques dans le sac vitellin. Cette technique est proposée comme une alternative à l'administration des antibiotiques par voie orale pour le traitement de l'omphalite chez les poussins.

### 3.6 Prévention

Puisqu'aucun traitement spécifique de l'omphalite n'est de valeur et d'efficacité remarquable, une prévention rigoureuse s'impose depuis l'élevage des reproductrices, passant par les couvoirs et arrivant aux élevages de production.

### 3.6.1 Mesures de prévention au niveau de l'élevage des reproductrices

- Les troupeaux parentaux doivent être exempts de maladies à transmission verticale qui peut avoir une incidence défavorable sur la performance et la qualité de leur progéniture ;
- La collecte des œufs doit se faire au moins 4 fois/jour pour prévenir les dommages de la coquille et réduire la probabilité de pénétration des bactéries ;
- Le ramassage manuel doit se faire par un personnel respectant les mesures d'hygiène ;
- Eviter que les œufs deviennent humides (par exemple par transpiration) ce qui favorise la pénétration bactérienne ;
- Les œufs pondus au sol et qui ont une contamination fécale doivent être séparés des œufs propres et nettoyés pour éviter les contaminations croisées ;
- Les œufs doivent être transportés vers une unité de traitement à la ferme pour la fumigation ou l'application d'un désinfectant approprié ;
- Les œufs à couver ne doivent jamais être soumis à un nettoyage par immersion ; cela engendre une contamination croisée et favorise la pénétration bactérienne ;
- Les œufs doivent être stockés à une température de 20 à 25°C et à une humidité relative de 65% à 70% [11, 40].

### 3.6.2 Les mesures de prévention au niveau du couvoir

- Le couvoir doit être conçu de manière à limiter la contamination croisée entre le secteur souillé et le secteur propre ;
- Les œufs doivent être inspectés à leur arrivée dans la salle de stockage pour s'assurer de leur conformité aux normes de taille, d'intégrité de la coquille et surtout de propreté ;
- En optimisant les conditions d'incubation on obtient des poussins d'un jour avec un nombril non déformé ;
- Un programme méticuleux de nettoyage et de désinfection du couvoir et du matériel doit être suivi pour empêcher l'accumulation de bactéries ;



- Le personnel qui manipule les œufs à couvrir et les poussins doit suivre des mesures hygiéniques strictes ;
- Les poussins morts ou présentant des anomalies doivent être éliminés et examinés pour la présence de salmonelles et d'autres bactéries associées aux omphalites ;
- Les camions de transfert doivent être nettoyés et désinfectés après chaque livraison. [20, 59]

### 3.6.3 Les mesures de prévention au niveau de l'élevage de production

- Le bâtiment d'élevage doit être correctement préparé pour l'accueil des poussins avec des couveuses, de l'eau et de la nourriture de bonne qualité surtout microbiologique ;
- La proportion de poussins faibles ou de petite taille devrait être notée, et si possible ils devraient être séparés des ceux en bonne santé ;
- Les poussins avec les signes évidents de l'omphalite ou d'halètement devraient être envoyés au laboratoire de diagnostic pour un examen microbiologique ;
- Les poussins présentant des anomalies et ne se nourrissant pas doivent être éliminés ;
- Les poussins montrant des signes évidents de maladie transmise verticalement caractérisée par des difficultés de déplacement, une détresse respiratoire, des ailes gonflées, un nombril non cicatrisé, et des anomalies neurologiques, doivent être écartés et envoyés à un laboratoire de diagnostic [20].

## CHAPITRE 4

### LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Les antibiotiques représentent aujourd'hui la première classe thérapeutique dans les deux médecines, humaine et vétérinaire, qui en tirent de très grands profits pour maîtriser les maladies infectieuses de l'homme et des animaux.

Chez les animaux, l'utilisation abusive des antibiotiques peut avoir des répercussions négatives sur la santé humaine en cas de développement de bactéries résistantes qui se transmettent à l'homme par la chaîne alimentaire ou l'environnement [72].

Cette transmission de résistance est plus évoquée chez les animaux destinés à la consommation humaine, y compris la volaille qui peut être le réservoir de plusieurs agents pathogènes résistants, notamment zoonotiques [73].

#### 4.1 Définition de l'antibiotique

Un antibiotique est une substance, naturellement produite par un microorganisme ou, de synthèse, qui a la capacité de pouvoir inhiber la croissance voire détruire d'autres microorganismes : on parle respectivement d'antibiotiques bactériostatiques ou bactéricides. La caractéristique principale des antibiotiques est leur grande spécificité d'action car ils agissent sur des cibles cellulaires structurales ou métaboliques spécifiques des procaryotes [74].

Les antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire appartiennent aux mêmes familles, à l'exception de quelques sous familles spécifiques de la médecine humaine. Les traitements antibiotiques ont pour objectifs la maîtrise des maladies, la restauration ou le maintien du bien-être animal et la prévention de la transmission des agents pathogènes aux autres animaux voire à l'Homme [75].

## 4.2 Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés dans six grandes classes d'agents antimicrobiens (Figure 4.1) :

- Inhibiteurs de la synthèse de la paroi cellulaire : Pénicillines et céphalosporines, cyclosérine, vancomycine, bacitracine, imidazole et dérivés ;
- Substances altérant la membrane plasmique : Polymixines et colistiméthate (détergents), polyène (nystatine et amphotéricine B) ;
- Inhibiteurs réversibles de la traduction (action sur les sous-unités ribosomales 30S et 50S) : florfénicol, tétracyclines, érythromycine, clindamycine ;
- Inhibiteurs non réversibles de la traduction (par liaison à la sous-unité 30S) : Aminoglycosides (néomycine, kanamycine, gentamicine, streptomycine, spectinomycine) ;
- Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques (réplication et transcription) : Rifampycines et quinolones ;
- Antimétabolites (blocage de certaines étapes du métabolisme énergétique) : Triméthoprime, sulfamides. [76].

### 4.2.1 Inhibiteurs de la synthèse de la paroi

#### 4.2.1.1. Les B-lactamines

Les  $\beta$ -lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus vaste et la plus importante, aussi bien par le nombre que par la diversité des molécules utilisables pour leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. Cette famille comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par une structure de base : le cycle  $\beta$ -lactame qui est le noyau de base. Les antibiotiques de cette famille sont bactéricides [77].

Cette famille comprend : Les pénicillines également appelées les pénames, Les céphalosporines et les carbapénèmes.

Les  $\beta$ -lactamines ont un mécanisme d'action identique, elles inhibent la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne en se fixant de façon covalente sur certaines enzymes responsables de la transpeptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane, les empêchant ainsi d'assurer leurs fonctions. Ces enzymes sont situées sur la face externe de la membrane interne et sont nommées protéines liant les pénicillines ou PLP [78].

#### 4.2.2 Substances altérant la membrane plasmique

Les polymyxines sont des polypeptides amphipatiques (partie hydrophile, partie hydrophobe). Elles désorganisent la membrane externe des bactéries gram négatif en s'attaquant aux phospholipides provoquant une dialyse de la cellule bactérienne et sa mort [79].

#### 4.2.3. Inhibiteurs de la synthèse protéique

##### 4.2.3.1 Les aminosides

Egalement appelés aminoglycosides, les aminosides sont des molécules constituées de plusieurs sucres aminés reliés par des liaisons glycosidiques. On distingue cinq familles d'aminosides qui se différencient par la nature de leurs sucres aminés : la néomycine, la kanamycine, la gentamicine, la streptomycine et la spectinomycine.

Les aminosides perturbent la synthèse des protéines au niveau de la sous-unité 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne [80]. Ils se fixent sur les ribosomes et perturbent à leur niveau, la traduction des ARNm, par une altération conformationnelle. Il s'ensuit des erreurs de réception des messages et l'incorporation d'acides aminés différents avec formation de protéines défectueuses d'où l'effet bactériostatique [81].

##### 4.2.3.2 Les tétracyclines

La première molécule de tétracycline découverte est la chlorotétracycline qui est une molécule naturelle. Deux autres molécules naturelles ont ensuite été découvertes et

constituent ainsi la première génération de tétracycline (l'oxytétracycline et la demeclocycline).

Les tétracyclines inhibent la synthèse protéique en se fixant à la sous unité 30S du ribosome. Ils inhibent l'étape d'élongation en empêchant l'accès au site A à l'ARN<sub>t</sub>. Leur action est bactériostatique [82].

#### 4.2.3.3 Les phénicolés

Les phénicolés sont des molécules chlorées dont fait partie le chloramphénicol qui est une molécule naturelle à partir de laquelle des dérivés ont été produits (le thiamphénicol).

Les phénicolés inhibent la synthèse protéique en se fixant à la sous unité 50S du ribosome au niveau du site de la transpeptidase. Ils inhibent la formation de la liaison peptidique lors de la phase d'élongation en inhibant la transpeptidation [83].

#### 4.2.3.4 Les macrolides

Les premiers macrolides sont d'origine naturelle (érythromycine, spiramycine, ...) Des nouveaux dérivés semi-synthétiques de l'erythromycine (azithromycine, roxithromycine, dirithromycine, clarithromycine) sont connus actuellement.

Les macrolides se fixent au niveau de la peptidyltransferase et inhibent la formation de liaisons peptidiques et détachent la chaîne d'acide aminé. Le pouvoir des macrolides est bactériostatique [80].

#### 4.2.4. Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques

##### 4.2.4.1 Les quinolones

Sont des agents antibactériens obtenus par synthèse chimique. Toutes les quinolones actuelles présentent une structure bi-cyclique, avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyle en position 4.

On distingue les molécules de première génération qui sont représentées par l'acide nalidixique et les molécules de seconde génération représentées par des molécules fluorées, les fluoroquinolones.

Les quinolones inhibent l'activité de l'ADN gyrase qui permet le super-enroulement négatif de l'ADN nécessaire pour éviter la vrille de l'ADN lors de l'ouverture de la double hélice pendant les phases de réplication et de transcription.

L'inhibition de la gyrase va provoquer une relaxation exagérée de l'ADN mais également sa fragmentation en raison de l'inhibition de l'activité de liaison de la gyrase. [84,85].

#### 4.2.4.2 Les Rifampicines

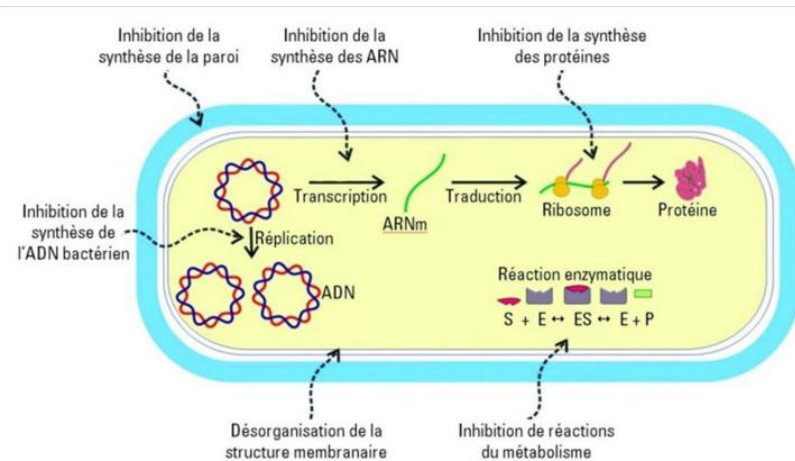
Agissent en inhibant l'ARN polymérase [83].

#### 4.2.5 Inhibiteurs de la synthèse de l'acide tétrahydrofolique

##### 4.2.5.1 Les sulfamides

L'acide tétrahydrofolique (THFA) est un cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques nécessaires à la synthèse des acides nucléiques.

Les sulfamides sont des analogues structuraux de l'acide para-aminobenzoïque. Ils vont agir comme des inhibiteurs compétitifs de la dihydroptéroate synthétase [86].



**Figure 4.1** : les sites d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne [87].

#### 4.3 Utilisation des antibiotiques en aviculture

En élevage avicole, il existe trois usages possibles des antibiotiques, chacun ayant un objectif précis.

##### 4.3.1 L'usage métaphylactique

Cet usage permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en phase d'incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes. La métaphylaxie est généralement mise en œuvre à partir d'un seuil d'atteinte des animaux au sein du lot de 10-15% de l'effectif.

Il permet de réduire le nombre d'animaux malades et/ou la mortalité et peut diminuer la quantité d'antibiotique qui aurait été nécessaire pour traiter un grand nombre d'animaux malades présentant des signes cliniques d'infection.

Généralement, les traitements métaphylactiques se font par administration dans l'eau de boisson ou dans l'aliment. [74, 88].

#### 4.3.2 L'usage prophylactique

Les antibiothérapies prophylactiques sont mises en place lors de situations critiques. C'est-à-dire lors de présence d'un facteur de risque très souvent associées au développement d'infections. Il s'agit notamment de périodes associées à un stress comme lors de transports. La principale différence entre la métaphylaxie et la prophylaxie est que lors d'une prophylaxie il n'y a pas encore de germe impliqué mais seulement un facteur de risque [74, 88].

#### 4.3.3 Facteur de croissance

Les antibiotiques peuvent être utilisés dans l'aliment au titre d'additifs en vue d'améliorer la croissance et les performances des animaux.

Cet usage fait l'objet de nombreuses critiques et il est totalement interdit au sein de la Communauté Européenne depuis 2006 [89].

Les antibiotiques utilisés en élevage avicole en Algérie sont représentés dans le tableau 4.1.

**Tableau 4.1:** Les principaux antibiotiques utilisés en aviculture en Algérie  
(Institut Pasteur d'Algérie, 2011) [90].

<b>Famille d'antibiotiques</b>	<b>Antibiotiques</b>
β-Lactamines	Ampicilline, Pénicilline, Amoxicilline+Acide clavulanique, Ceftiofur
Aminosides	Spectinomycine, Streptomycine, Neomycine, Kanamycine, Apramycine.
Cyclines	Doxycycline, Oxytetracycline, Tetracycline
Sulfamides et associés	Sulfadimerazine, Sulfadiméthoxine, Sulfadiméthoxazole, Sulfaméthoxine, Triméthoprime+sulfonamide, Triméthoprime
Quinolones	Flumequine, Acide Oxolinique, Ciprofloxacine, Danofloxacine, Enrofloxacine, Norfloxacine
Orthosomycines	Avilamycine
Polypeptides	Bacitracine, Colistine, Polymyxine

#### 4.4 Impact de l'antibiothérapie vétérinaire sur la santé humaine

##### 4.4.1 Résidus de traitement et flore intestinale humaine



Les résidus d'antibiotiques présents dans les denrées alimentaires d'origine animale représentent un danger dont les risques associés sont d'ordre allergique, toxicologique, microbiologique et industriel. Ces résidus peuvent notamment perturber la flore intestinale humaine. En effet, même à très faibles doses les antibiotiques ingérés ont un impact sur l'écologie de la flore intestinale, ce qui peut comporter certains risques pour la santé humaine [91,92].

#### 4.4.2 Diffusion des bactéries résistantes entre l'animal et l'Homme

Les agents antimicrobiens couramment utilisés pour traiter ou prévenir les infections bactériennes chez les animaux appartiennent essentiellement aux mêmes classes que ceux utilisés en médecine humaine. De plus, les bactéries isolées chez les animaux et celles isolées chez l'homme, que ce soit lors d'une infection ou en situation de colonisation, partagent les mêmes mécanismes de résistance.

Les animaux, comme les humains, peuvent être des réservoirs de bactéries résistantes [93], et la dissémination de ces bactéries résistantes entre animal et humain peut se produire par contact direct ou, à travers la chaîne alimentaire à partir d'animaux traités par des antibiotiques [94].

### 4.5 La résistance aux antibiotiques

#### 4.5.1 Définition

Depuis l'introduction de la pénicilline, de nombreuses molécules d'antibiotiques ont été développées et commercialisées. Elles ont permis une amélioration considérable de la santé publique et animale. L'optimisme initial, a cependant, rapidement laissé place à l'inquiétude en raison de l'apparition de bactéries résistantes aux antibiotiques et de la rapide dissémination des gènes de résistance dans le monde bactérien [95].

Le développement de résistances dans le monde animal est à mettre en relation avec l'utilisation, fréquente de nos jours, d'antibiotiques en élevage. La promiscuité actuelle entre l'homme et l'animal dans la société est à l'origine de nombreux échanges génétiques entre eux (les gènes de résistances peuvent entre autres se transmettre de l'animal à l'homme ou l'inverse). Un vrai problème de santé publique est alors soulevé [72, 96].

#### 4.5.2 Les différents types de résistance

La résistance aux antibiotiques apparaît selon différentes modalités : l'une naturelle, l'autre acquise. Il est important de les distinguer car leurs enjeux ne sont pas les mêmes.

##### 4.5.2.1 La résistance naturelle

Les bactéries peuvent présenter une résistance naturelle à certaines familles d'antibiotiques. Ces mécanismes de résistance sont spontanés et assez constants. Cette résistance concerne l'ensemble des souches d'une même famille et elle fait, donc, partie du patrimoine génétique normal du germe. Ainsi, elle définit le spectre d'activité naturelle des différentes familles et sous-familles d'antibiotiques [75, 80]

##### 4.5.2.2 La résistance acquise

La résistance peut être acquise. Cette acquisition peut avoir un support chromosomique (mutation) ou plasmidique (acquisition d'un élément mobile porteur de la résistance). Suite à cette modification spontanée, la bactérie peut alors échapper à l'action de l'antibiotique [80, 97].

La résistance acquise concerne une proportion variable de souches appartenant à une même espèce. Elle est imprévisible sur le plan individuel. Une fois cette résistance acquise, elle peut diffuser rapidement dans une population surtout par la transmission horizontale d'éléments mobiles [97, 98].

#### 4.5.3 Les mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Quatre mécanismes fondamentaux confèrent aux bactéries une résistance aux antibiotiques :

##### 4.5.3.1 Production d'enzymes inactivantes

Les bactéries peuvent utiliser l'inactivation enzymatique via la production d'enzymes détruisant ou modifiant l'antibiotique qui ne peut plus se fixer sur sa cible.

Cette modification enzymatique est un des mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines (par production de  $\beta$ -lactamase), aux macrolides, aux aminosides et au chloramphénicol.

#### 4.5.3.2 Modifications des cibles des antibactériens

Les mutations spontanées entraînent souvent une modification des cibles des antibiotiques, notamment au niveau des sites de liaison. Par exemple des mutations spontanées au niveau du gène *gyrA* entraînent une modification de l'ADN gyrase qui a pour conséquence une baisse de l'efficacité des quinolones dont l'affinité pour le site de liaison est réduite.

#### 4.5.3.3 Diminution de l'accumulation cellulaire des antibiotiques

Elle consiste en la diminution de la perméabilité membranaire ou le phénomène d'efflux. Cette modification peut passer par une mutation des gènes codant les porines membranaires. Ces dernières contrôlent les molécules passant la paroi qui constituent la porte d'entrée des antibiotiques. La modification des porines passe souvent par une réduction de leur taille empêchant ainsi le passage des antibiotiques. Cette stratégie est particulièrement développée par les bactéries Gram négatif et concerne différentes classes d'antibiotiques.

Les bactéries développent aussi des mécanismes actifs de rejet des antibiotiques via des pompes membranaires. Ce type de résistance concerne plusieurs familles d'antibiotiques dont les  $\beta$ -lactamines, les tétracyclines, les macrolides et les fluoroquinolones.

#### 4.5.3.4 Développement d'une voie enzymatique alternative

Il est possible pour les bactéries de contourner la voie «sauvage» en développant une voie enzymatique alternative. Cela concerne les antibiotiques agissant sur les voies de synthèse fondamentales pour la bactérie (exemple les sulfamides) [84, 83, 97, 98].

#### 4.5.4 Les mécanismes de transfert des gènes de résistance

Il existe trois mécanismes principaux de transfert horizontal d'éléments génétiques (Figure 4.2):

#### 4.5.4.1 La transformation

La transformation est le transfert passif d'un ADN libre, dit exogène, issu d'une bactérie lysée vers une bactérie réceptrice en état de compétence. L'état de compétence se caractérisant par un état physiologique génétiquement programmé qui permet la capture d'ADN présent dans l'environnement [99].

La fixation et l'adsorption de l'ADN libre par la cellule compétente est suivie d'une potentielle recombinaison génétique qui conduit à l'insertion de l'ADN exogène dans le génome bactérien et à l'acquisition de nouveaux caractères génétiques stables et transmissibles [100].

#### 4.5.4.2 La conjugaison

La conjugaison a été observée pour la première fois chez *E. coli*. Elle est le mécanisme le plus fréquent de transmission d'ADN entre les bactéries, c'est également celui qui permet le transfert unidirectionnel d'importantes quantités d'informations génétiques le plus rapidement possible. Elle permet notamment le transfert horizontal des plasmides qui représentent le principal support génétique de la résistance aux antibiotiques. Dans ce phénomène, une bactérie donneuse transmet à une bactérie receveuse une copie de son plasmide porteur de gènes de résistance appelé plasmide R ou facteur R [99, 101].

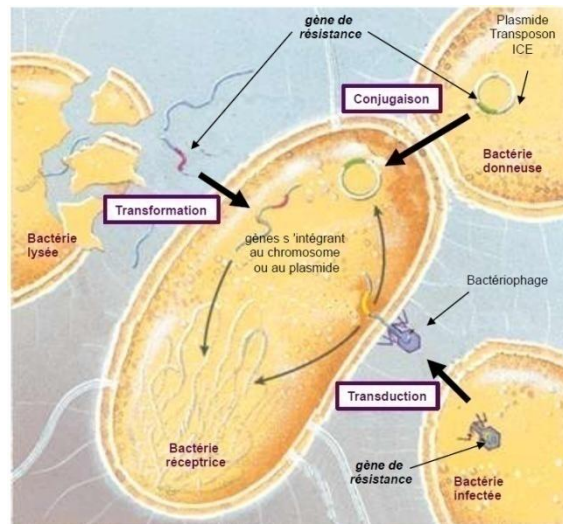
#### 4.5.4.3 La transduction

La transduction est le transfert d'ADN par l'intermédiaire de bactériophages qui sont des virus de bactéries que l'on peut trouver sous forme virulentes ou tempérés.

Il existe deux types de transduction : la transduction généralisée et la transduction localisée :

- La transduction généralisée : Se produit lors du cycle lytique. Lors de la lyse de l'ADN bactérien, des fragments d'ADN, de taille similaire à l'ADN phagique, peuvent se trouver encapsidés par erreur dans les particules virales.

- La transduction localisée : Par un phage qui ne peut transduire qu'une région spécifique du chromosome bactérien. Elle est causée par une excision déficiente du prophage de son chromosome bactérien, on obtient alors un ADN hybride constitué d'un fragment d'ADN phagique et d'un fragment d'ADN bactérien [99].



**Figure 4.2** : Mécanismes de transfert de gènes de résistance [102].

#### 4.5.4.4 Les éléments génétiques mobiles

Les éléments génétiques mobiles sont des segments d'ADN qui codent des enzymes et d'autres protéines qui permettent leurs mouvements à l'intérieur du génome (mobilité intracellulaire) ou entre cellules bactériennes (mobilité intercellulaire) [99].

##### A- Les plasmides

Les plasmides sont des molécules d'ADN extra-chromosomique bi-caténares et généralement circulaires, d'une taille pouvant varier de moins de 2 kb à plus de 100 kb. Ce sont des structures stables, capables de réplication autonome, constituées de modules génétiques codant des fonctions non essentielles à la survie des bactéries en conditions physiologiques normales [80, 99].

Ainsi, ils permettent aux bactéries qui les portent, l'acquisition de nouveaux phénotypes tels que la résistance aux antibiotiques.

Pour assurer leur maintien dans les cellules bactériennes, les plasmides doivent assurer leurs réplifications, contrôler leurs nombres de copies et assurer leur transmission aux cellules filles lors des divisions cellulaires [80, 99].

#### B- Les transposons

Les éléments transposables ou transposons sont définis par un segment d'ADN capable de se déplacer d'une position à une autre sur une molécule d'ADN. Cette translocation, nommée transposition, peut se faire au sein d'une même molécule d'ADN ou entre un chromosome bactérien et un plasmide.

Ils possèdent au sein de leurs structures, un gène codant une transposase qui permet d'assurer leurs mobilités [80, 99, 103].

#### C- Les intégrons

Les intégrons sont des structures génétiques constituées de deux segments conservés encadrant une région centrale dans laquelle va pouvoir être « capturées » des cassettes de gènes [104]. Ces dernières représentent de petites structures d'ADN circulaires de moins de 2 kb ; Elles sont constituées uniquement d'un site spécifique de recombinaison, un élément de 59 pb, associé à un gène unique qui confère, pour la plupart, une résistance à un antibiotique.

L'insertion de la cassette dans l'intégron s'effectue par un phénomène de recombinaison [105].

## **CHAPITRE 5**

### **ETUDE DU NIVEAU HYGIENIQUE ET CONTAMINATION DES COUVOIRS**

#### 5.1 Matériel et méthodes : Etude de la contamination bactérienne de l'air et des surfaces dans quelques couvoirs

L'étude a porté sur 03 couvoirs du secteur privé situés aux alentours de la wilaya de Constantine ; Et l'analyse des résultats a été effectuée au laboratoire « PADESCA » de l'université science vétérinaire Constantine 1.

La période d'expérimentation s'est étalée de mars 2015 à Août 2015 soit une durée de 6 mois.

Chaque couvoir a été visité deux fois : la première au moment du transfert des œufs de la salle d'incubation à la salle d'éclosion au 16<sup>e</sup> jour d'incubation comme recommandé par MARIS (1988) [52] et l'AFSCA (2002) [106] (pour le contrôle bactériologique de l'air et des surfaces) et la deuxième après éclosion afin de récupérer du duvet pour la recherche des salmonelles.

Des œufs à couver ont été aussi récupérés afin de déterminer leurs niveaux de contamination externe et interne.

Dans le but d'évaluer les qualités du nettoyage et de la désinfection ainsi que les mesures de sécurité sanitaire prises au niveau de chaque unité, un questionnaire a été établi (Appendice B). Il permet de relever des informations relatives aux éléments suivants :

- Les caractéristiques du bâtiment ;
- Le fonctionnement du couvoir et son niveau d'hygiène;
- Les mesures de biosécurité prises ;
- Les antécédents pathologiques enregistrés et les performances zootechniques réalisées.

### 5.1.1 Contrôle bactériologique de l'air

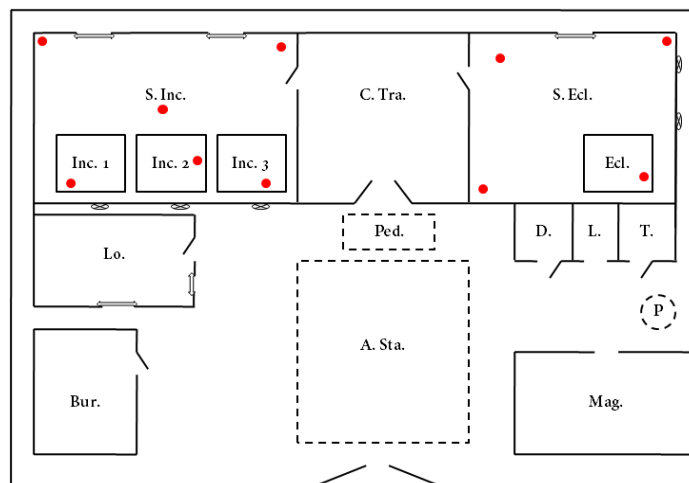
#### 5.1.1.1 Matériel et méthode de prélèvement

- Pour le contrôle des niveaux de contamination bactérienne de l'air on a utilisé des boîtes de pétri contenant les milieux de culture suivants : Gélose Trypticase Soja, gélose MacConkey, gélose Baird Parker, gélose Bile Esculine Azide et gélose au Cétrimide.

Le matériel de prélèvement est préparé la veille de la réalisation des prélèvements en quantités suffisantes (conservé au réfrigérateur) et est transporté dans une glacière nettoyée et désinfectée avant chaque série de prélèvement.

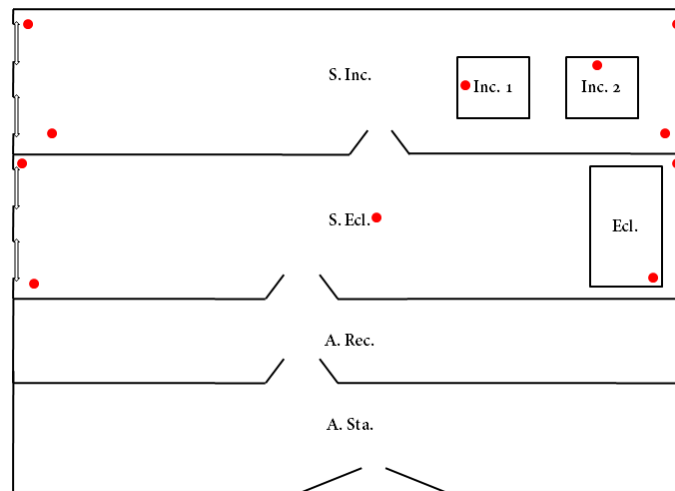
- Pour la prise de la température et de l'hygrométrie de l'air ainsi que la pression atmosphérique, on a utilisé une mini-station météorologique de marque *Oregon Scientific* modèle : *BAR 938 HG*.

Au couvoir, les boîtes de pétri sont déposées (par groupe de 05 boîtes chacune contenant un des milieux sus-cités) à +/- 50 cm au dessus du sol selon un schéma bien défini pour chaque couvoir (en fonction de sa conception) (Figures 5.1, 5.2 et 5.3).

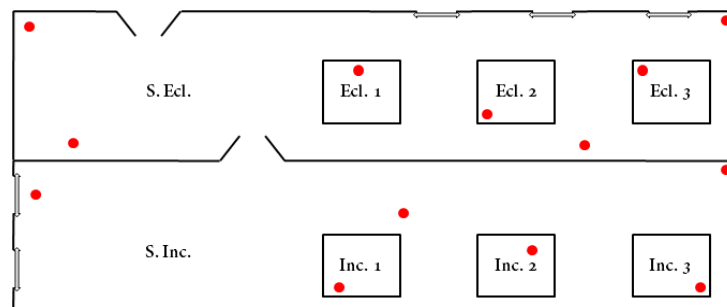


**Figure 5.1** : Plan du couvoir A et schéma d'échantillonnage.





**Figure 5.2** : Plan du couvoir **B** et schéma d'échantillonnage.



**Figure 5.3** : Plan du couvoir **C** et schéma d'échantillonnage.

*S. Inc* : Salle d'incubation ; *S. Ecl* : Salle d'éclosion ; *Inc* : Incubateur ; *Ecl* : Éclosioir ; *C. Tra* : Couloir de transfert. *Lo* : loge ; *Ped* : Pédiluve ; *Bur* : Bureau ; *A. Sta* : Aire de stationnement ; *Mag* : Magasin ; *D* : Douche ; *L* : Lavabo ; *T* : Toilettes ; *P* : Puits ; ● Point d'échantillonnage.

La technique de prélèvement consiste à ouvrir (exposer à l'air libre) les boîtes de Pétri (contenant les milieux de culture sélectifs ou non) pendant 10 minutes (selon la technique décrite par *Tber et al., 1994*) [49].

Les boîtes sont identifiées (en leur attribuant un code alphanumérique correspondant à chaque point de prélèvement) et sont transportées dans une glacière isotherme vers le laboratoire de recherche PADESCA (Institut des sciences vétérinaires de Constantine) pour incubation et analyses.

A chaque point d'échantillonnage, la température et l'humidité de l'air ainsi que la pression atmosphérique sont prises.

#### 5.1.1.2 Matériel et méthodes d'analyse

##### A. Numération bactérienne

###### \* Flore aérobie mésophile totale

Le dénombrement est fait sur gélose Trypticase Soja. Les boîtes de Pétri sont mises à l'étuve à 37°C pendant 24 heures et toutes les colonies ayant poussé après incubation sont comptées.

###### \* Entérobactéries

Leur dénombrement se fait sur gélose McConkey. Les boîtes de Pétri sont mises à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Toutes les colonies ayant poussé après incubation sont comptées.

###### \* Staphylocoques et des microcoques

Leur énumération est faite sur gélose Baird Parker. Les boîtes de Pétri sont mises à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Puis laissées pendant 24 heures sur la paillasse à température ambiante. Seules les colonies noires (staphylocoques) et brune noirâtres (microcoques) sont comptées.

###### \* Streptocoques

Leur comptage est fait sur gélose Bile Esculine Azide. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Les colonies de streptocoques sont claires avec un halo noir très net.

### \* *Pseudomonas*

Elle est faite sur gélose au Cétrimide. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Les colonies de *Pseudomonas* présentent une pigmentation caractéristique bleue ou bleu-verte.

### B. Plans de répartition spatiale (variogrammes)

Chaque code alphanumérique est introduit dans une feuille de calcul après avoir été transformé en coordonnées spatiales (exprimées en mètres) ( $X$ ,  $Y$ ), devant lesquelles et dans chacune des colonnes sont introduits respectivement les dénombrements bactériens correspondants ainsi que les valeurs enregistrées pour les facteurs environnementaux ( $Z$ ).

Pour l'obtention des plans de répartition, les résultats des dénombrements bactériens ont été traités statistiquement pour être organisés en classes comme première étape. Le nombre de classes est déterminé en utilisant la règle de *Sturge* :  $K=1+(3.333 \text{ Log}N)$  où  $K$  est le nombre de classes et  $N$  est celui de toutes les observations.

Ainsi, on a pu définir 06 classes pour chaque groupe bactérien.

Pour éviter toutes pertes de données, les étendues  $E$  inégales des classes ont été calculées de la façon suivante :  $E=\sum x_i n_i / K$  où  $x$  est le nombre de colonies dénombrées,  $n$  est le nombre de fois que  $x$  s'est répété dans la totalité des observations et  $K$  est le nombre de classes.

Les données sont alors traitées avec le logiciel *Surfer 11* en utilisant l'algorithme d'interpolation et d'extrapolation Krigeage "*kriging*", qui est une méthode statistique linéaire d'estimation de la meilleure valeur calculée sur la base d'une combinaison linéaire des valeurs avoisinantes afin de minimiser les marges d'erreur de variance entre les échantillons voisins. Cet algorithme (parmi d'autres fournis par le logiciel) permet d'avoir les meilleures représentations graphiques pour des petits ensembles de données (<250 observations) ainsi que pour des ensembles de données plus importants (>1000 observations). (*Golden Surfer 11.0.642. Golden, Co, Colorado, USA, 2012*) [107]. Au sens statistique, le krigeage est non seulement l'algorithme optimal d'interpolation et d'extrapolation mais aussi la méthode d'estimation la plus précise [108].

Les niveaux de contamination sont exprimés en UFC (Unité Formant Colonie)/cm<sup>2</sup>/h.

### C. Identification bactérienne

De chaque secteur (incubation ou éclosion), cinq colonies (de chaque milieu de culture) ont fait l'objet d'identification bactérienne en utilisant des galeries *Analytical Profile Index API 20 E* (bio-Mérieux, France) pour les entérobactéries et les *Pseudomonas spp*, *API 20 Strep* (bio-Mérieux, France) pour les streptocoques et les entérocoques et le test de la coagulase (plasma de lapin) pour l'identification de *Staphylococcus aureus*.

#### 5.1.2 Etude de la contamination des surfaces

##### 5.1.2.1 Matériel et méthode de prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés à partir de :

- \* Les parois de la salle d'incubation et la salle d'éclosion (à 15 cm du sol) en quatre endroits Différents ;
- \* Les parois internes des machines (incubateurs et éclosiers) en quatre endroits ;
- \* Quatre plateaux d'incubation et quatre autres d'éclosion.

Les prélèvements ont été faits selon la technique du frottis par écouvillon humidifié à l'intérieur d'un cadre métallique inoxydable d'une surface totale de 20 cm<sup>2</sup> (5cm/4cm) stérilisé par flambage après chaque prélèvement. Le balayage de la surface se fait selon le schéma suivant : 15 allers-retours sur la longueur et 10 allers-retours sur la largeur tout en tournant l'écouvillon.[52].

L'écouvillon est alors récupéré dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau peptoneé tamponnée et il sera traité le même jour. Une série de dilutions est réalisée au laboratoire et 0.1 ml de chaque suspension est utilisé pour ensemercer séparément des boites de pétri contenant les mêmes milieux de culture utilisés pour le contrôle bactériologique de l'air afin de chercher les mêmes groupes bactériens.

Les niveaux de contamination sont exprimés en UFC/cm<sup>2</sup>.

### 5.1.3 Etude de la contamination interne et externe des œufs à couver et recherche des salmonelles sur le duvet

#### 5.1.3.1 Etude de la contamination interne et externe des œufs à couver

Cinq œufs à couver de chaque couvoir ont été récupérés pour déterminer leurs niveaux de contamination microbienne interne et externe.

##### A. Contamination externe

Les prélèvements ont été réalisés selon la technique d'écouvillonnage de toute la surface de la coquille à l'aide d'un écouvillon humidifié qui est ensuite récupéré dans un tube à essai contenant 10ml d'eau peptonée. Une série de dilutions est réalisée au laboratoire et 0.1ml de chaque dilution est utilisé pour ensemercer séparément des boîtes de pétri contenant les mêmes milieux de cultures utilisés pour le contrôle de la contamination de l'air et des surfaces.

Une colonie (du type le plus dominant sur chacun des milieux utilisés) est ré-isolée sur le même milieu puis sur gélose nutritive.

L'identification des bactéries isolées des surfaces et des milieux internes des œufs est faite comme décrit précédemment.

##### B. Contamination interne

La surface des œufs est stérilisée en les immergeant dans de l'alcool 75° pendant deux minutes ; ensuite les œufs sont retirés et laissés jusqu'à l'évaporation totale de l'alcool. Les œufs sont ouverts aseptiquement à l'aide d'une pince stérile et leur contenu est versé dans un bécher stérile, puis mixé à l'aide d'un homogénéisateur de type péristaltique pendant 15 secondes. Le mélange est alors utilisé pour ensemercer (0,1ml) les mêmes milieux décrits pour la contamination externe.

Le même schéma décrit pour la contamination externe est utilisé pour le ré-isolement et l'identification des bactéries de la contamination interne.

### A. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries identifiées

La technique de l'antibiogramme réalisée pour les bactéries identifiées (à partir des surfaces externes et des milieux intérieurs des œufs à couver) est la même que celle utilisée pour les bactéries isolées d'omphalites.

#### 5.1.3.2 Recherche et identification des salmonelles sur le duvet

Le duvet est traité le jour même de son prélèvement. La recherche des salmonelles est alors réalisée selon le protocole ISO6579/2002 résumé dans le tableau 5.1.

**Tableau 5.1:** Détection horizontale des salmonelles sur le duvet.

J1	Mettre en suspension 25 g de duvet dans 225ml d'eau peptonée tamponnée. Incubation de à 37°C pendant 24h			
J2	0.1 ml de la suspension mère additionnée à 10 ml de Rappaport - Vassiliadis. incubé à 42°C pendant 24h.		1 ml de la suspension mère additionnée à 10 ml de Muller - Kauffman. Incubé à 37°C pendant 24h.	
J3	Isolement sur gélose XLD. Incubé à 37°C pendant 24h.	Isolement sur gélose Hecktoen. Incubé à 37°C pendant 24h.	Isolement sur gélose XLD. Incubé à 37°C pendant 24h.	Isolement sur gélose Hecktoen. Incubé à 37°C pendant 24h.
J4	Ré isolement de 05 colonies suspectes de chaque boîte sur gélose nutritive. Incubation à 37°C durant 24h.			
J5	Etude des caractères biochimiques (galeries <i>API système 20 E</i> )			

#### 5.1.4 Étude statistique

Les tests statistiques suivants ont été utilisés :

- Le test ANOVA à un facteur (suivi du test de comparaisons multiples de Tukey) pour étudier les différences de contamination (pour chaque groupe bactérien) entre les trois couvoirs et entre les compartiments de chacun d'entre eux.
- Le coefficient de corrélation  $r$  de Pearson pour déterminer les relations pouvant exister entre les populations bactériennes énumérées et les facteurs d'ambiance relevés ( $T^\circ$ , H%) et aussi entre les niveaux de contamination de l'air, ceux des surfaces et des œufs à couvrir.
- Le test exact de Fisher pour évaluer les différences entre les niveaux de contamination interne et externe des œufs à couvrir.

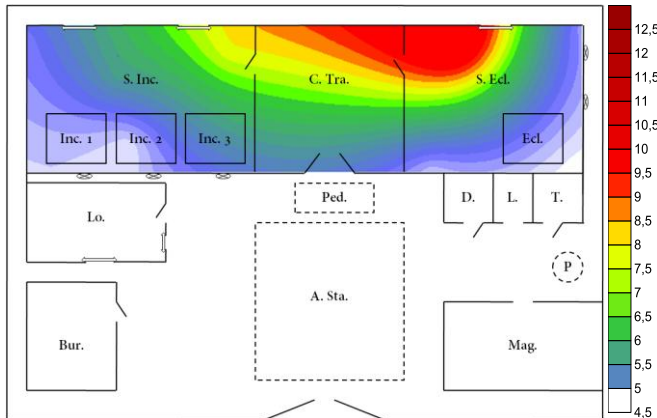
La valeur de P est fixée à 5% et de même celle de  $\alpha$  du test de Tukey avec un intervalle de confiance de 95%.

Ces tests ont été réalisés en utilisant le logiciel *GraphPad InStat prism 6.04* (*GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA ; 2014*).

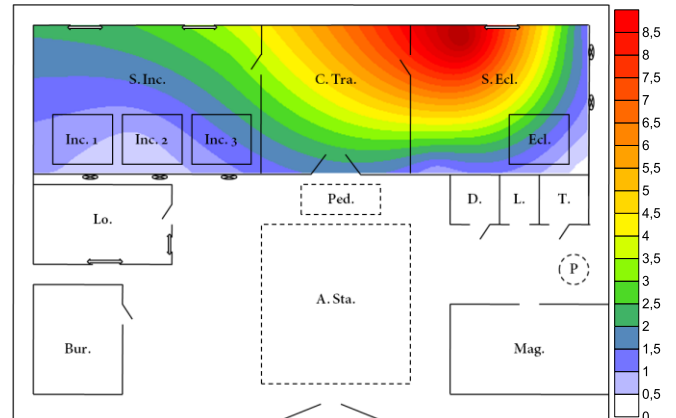
## 5.2. Resultats

### 5.2.1 Couvoir A

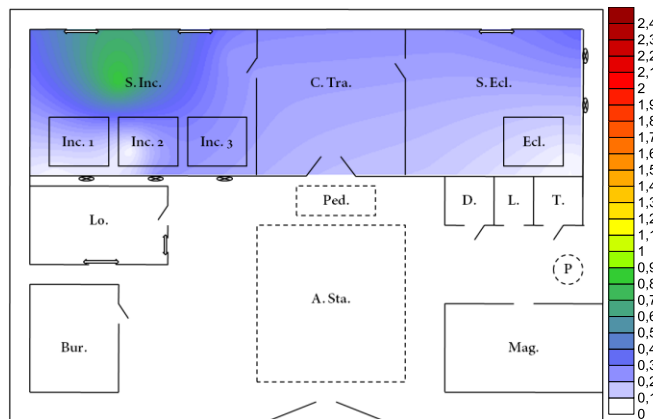
#### 5.2.1.1 Contamination de l'air



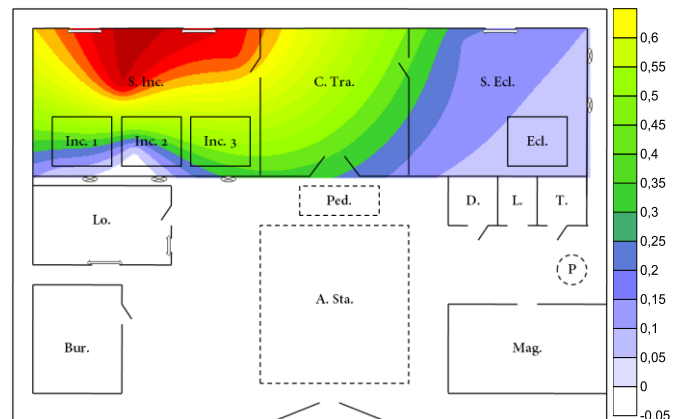
**Figure 5.4 :** Répartition spatiale de la contamination de l'air par la Flore totale (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).



**Figure 5.5 :** Répartition spatiale de la contamination de l'air par les entérobactéries (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).

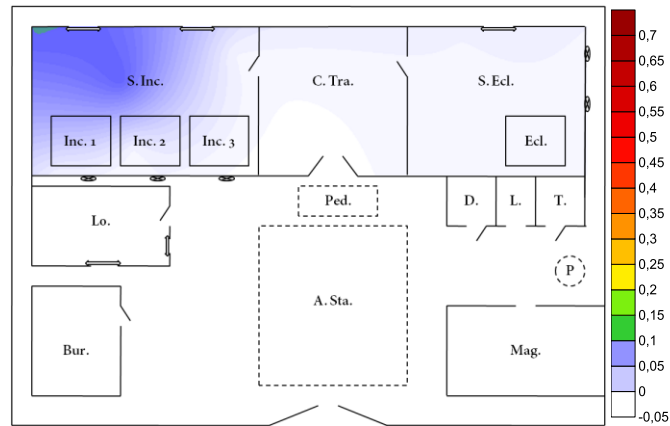


**Figure 5.6 :** Répartition spatiale de la contamination de l'air par les staphylocoques et les microcoques (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).



**Figure 5.7 :** Répartition spatiale de la contamination de l'air par les streptocoques et les entérocoques (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).





**Figure 5.8** : Répartition spatiale de la contamination de l'air par *Pseudomonas spp* (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).

La contamination de l'air par la flore mésophile aérobie totale et les entérobactéries est plus grande dans la salle d'éclosion que dans la salle d'incubation et les machines (incubateurs et élosoir). Elle se localise le plus vers les ouvertures d'admission d'air (des salles d'incubation et d'éclosion) mais pas significativement ( $F=1.479$  ;  $P=0.2919$  et  $F=1.217$  ;  $P=0.3648$  respectivement) (Figure 5.4 et Figure 5.5) ce qui indique des niveaux de contaminations semblables.

La salle d'incubation est significativement plus contaminée par les staphylocoques-microcoques avec un niveau très élevé en son centre ( $F=4.717$  ;  $P=0.0353$ ) (Figure 5.6). La même observation peut être faite pour la contamination de l'air avec les streptocoques-entérocoques qui se concentrent au niveau de la salle d'incubation, toujours du côté des ouvertures d'admission de l'air ( $F=87.38$  ;  $P<0.0001$ ) (Figure 5.7).

Les *Pseudomonas* se concentrent dans l'air de la salle d'incubation plus que les autres compartiments, mais pas de manière significative ( $F=4.000$  ;  $P=0.0519$ ) (Figure 5.8).

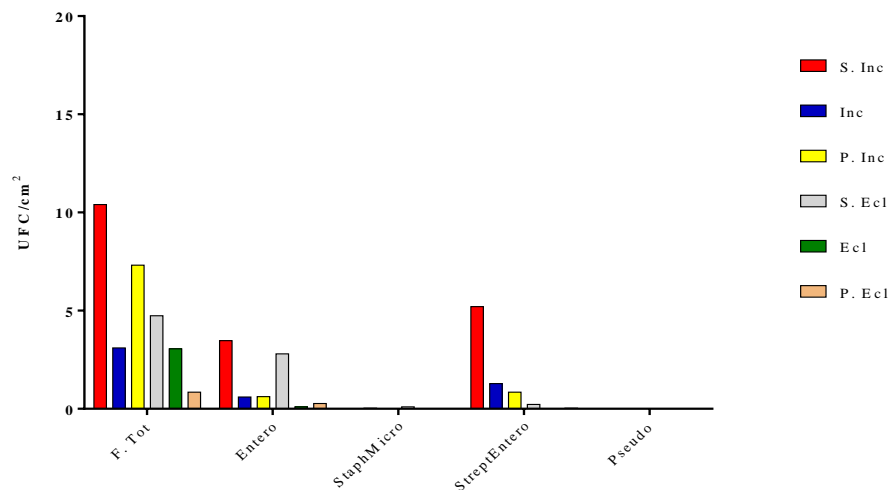
Les concentrations des germes dans l'air sont complètement indépendantes de sa température et de son hygrométrie, à l'exception des streptocoques dont la charge est positivement corrélée avec la température ( $r=0.925$  ;  $P=0.008$ ).

Le tableau 5.2 renseigne sur les différentes espèces bactériennes identifiées dans l'air de ce couvoir et leur lieu d'isolement.

**Tableau 5.2** : Espèces bactériennes identifiées dans l'air du couvoir A et leurs lieux d'isolement.

Bactéries identifiées	Lieux d'isolement
<i>E. coli</i>	Éclosoir
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Salle d'incubation, incubateur 1
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	Salle d'éclosion, incubateur 2
<i>Proteus penneri</i>	Éclosoir
<i>Proteus vulgaris</i>	Salle d'éclosion
<i>Pantoea spp</i>	Salle d'éclosion
<i>Enterococcus faecium</i> ,	Salle d'éclosion, incubateur 1
<i>Lactococcus cremosis</i> , <i>Micrococcus spp</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Salle d'incubation, éclosoir

### 5.2.1.2 Contamination des surfaces



**Figure 5.9:** Contamination des surfaces au niveau du couvoir A.

Les parois de la salle d'incubation est la plus contaminée par la flore aérobie mésophile totale, suivie respectivement par les plateaux d'incubation, les parois de la salle d'éclosion, les éclosoirs et les incubateurs ensemble et enfin les plateaux d'éclosion. Néanmoins cette différence n'est pas significative (*Test ANOVA*,  $F=1.143$  ;  $P=0.386$ ). La contamination des surfaces par la flore aérobie mésophile totale est fortement corrélée à celle de l'air ( $r=0.817$  ;  $P=0.002$ ).

Les entérobactéries sont plus isolées – de manière décroissante – à partir des parois de la salle d'incubation, de la salle d'éclosion, des incubateurs et des plateaux d'incubation, des plateaux d'éclosion et enfin des parois des éclosoirs ; mais les différences sont non significatives ( $F=0.652$  ;  $P=0.636$ ). La corrélation entre la contamination des surfaces avec ces bactéries et celle de l'air est positive ( $r=0.717$  ;  $P=0.010$ ).

La salle d'éclosion a enregistré le plus haut niveau de contamination par les staphylocoques-microcoques alors que les surfaces de tous les autres compartiments sont exempts de ces germes (mais pas significativement) ( $F=0.626$  ;  $P=0.653$ ). Aucune corrélation n'existe entre la contamination de l'air et celle des surfaces avec ces bactéries ( $r=-0.264$  ;  $P=0.239$ ).

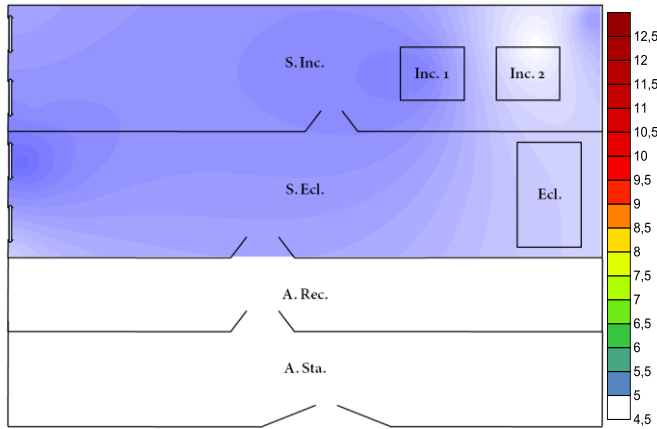
En ce qui concerne les streptocoques-entérocoques, c'est le secteur incubation qui est significativement le plus contaminé (de manière décroissante : Parois de la salle d'incubation, celles des incubateurs et celles des plateaux d'incubation) suivi par la salle d'éclosion ( $F=3.693$  ;  $P=0.038$ ). Les parois des éclosoirs et les plateaux d'éclosion en sont exempts.

La contamination des surfaces avec ces bactéries augmente de manière proportionnelle avec celle de l'air ( $r=0.757$  ;  $P=0.006$ ) (Figure 5.9).

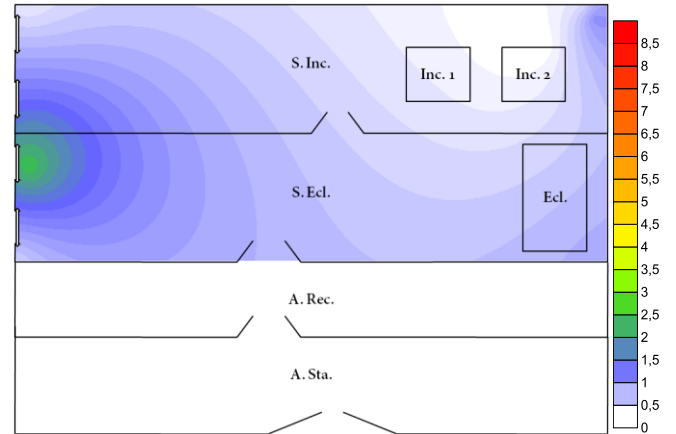
Aucun *Pseudomonas* n'a été isolé à partir des surfaces et aucune *salmonelle* n'a pu être identifiée dans ce couvoir.

## 5.2.2 Couvoir *B*

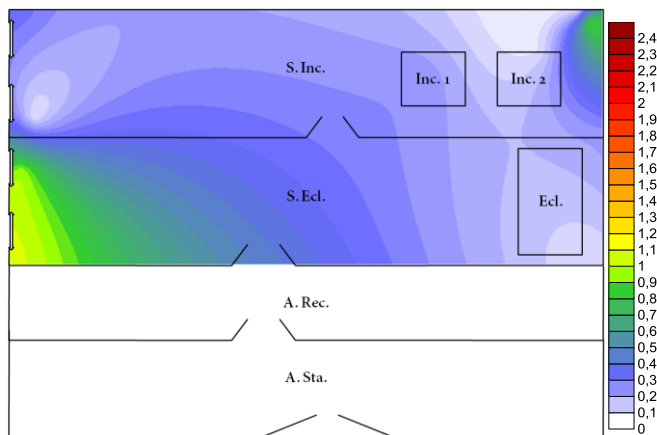
### 5.2.2.1 Contamination de l'air



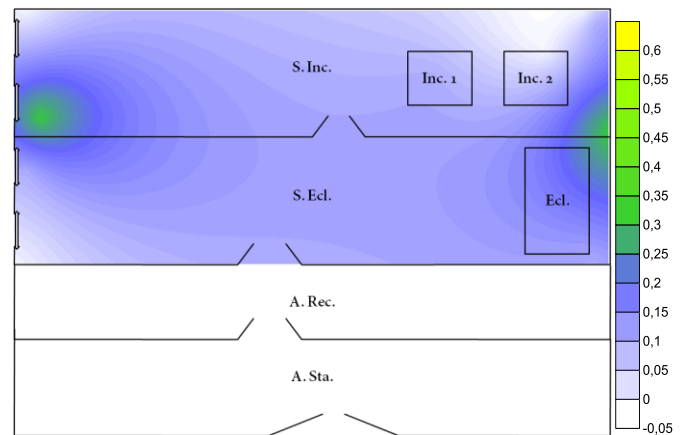
**Figure 5.10** : Répartition spatiale de la contamination de l'air par la Flore totale (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).



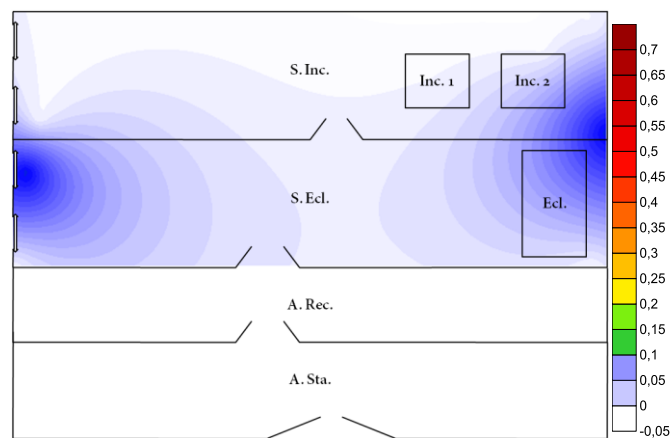
**Figure 5.11** : Répartition spatiale de la contamination de l'air par les entérobactéries (CFU/Cm<sup>2</sup>/h)



**Figure 5.12** : Répartition spatiale de la contamination de l'air par les staphylocoques et les microcoques (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).



**Figure 5.13** : Répartition spatiale de la contamination de l'air par les streptocoques et les entérocoques (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).



**Figure 5.14** : Répartition spatiale de la contamination de l'air par *Pseudomonas* spp (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).

L'air dans tous les compartiments de ce couvoir a les mêmes niveaux de contamination par la flore totale ( $F=0.828$  ;  $P=0.514$ ) (Figure 5.10). Par contre la salle d'éclosion (de manière non significative) est plus contaminée par les entérobactéries ( $F=0.8617$  ;  $P=0.4992$ ) (avec une concentration tout près d'une fenêtre qui avoisine une autre fenêtre de la salle d'incubation) (Figure 5.11).

La situation est la même pour les staphylocoques-microcoques ( $F=1.938$  ;  $P=0.202$ ) (avec plus de concentration du côté des fenêtres de la salle d'éclosion et du fond de la salle d'incubation) (Figure 5.12) et les *streptocoques-entérocoques* (avec deux points à forte concentration au fond de la salle d'incubation et près de l'une de ses fenêtres, et une plus importante concentration focale au fond de la salle d'éclosion) ( $F=0.533$  ;  $P=0.672$ ) (Figure 5.13). La répartition des *Pseudomonas spp* est semblable ( $F=0.666$  ;  $P=0.5957$ ) (Figure 5.14).

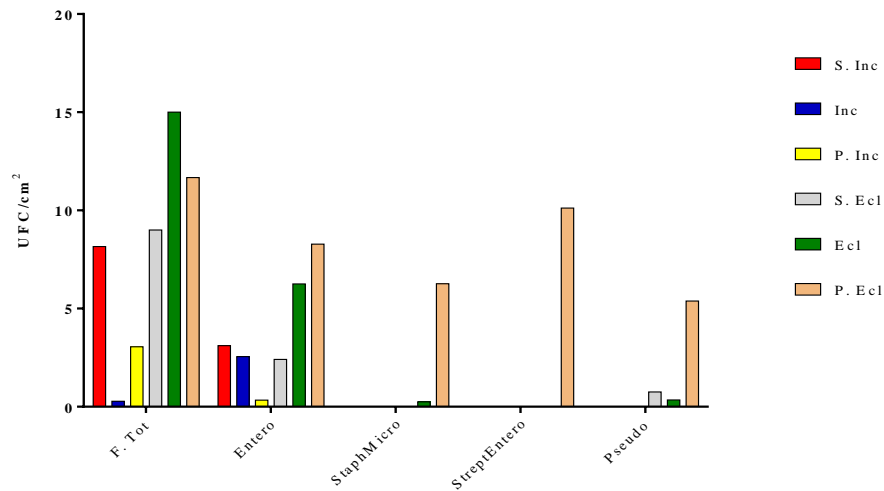
La concentration des *streptocoques-entérocoques* dans l'air de ce couvoir est inversement proportionnelle à sa charge en eau ( $r=-0.814$  ;  $P=0.025$ ), alors que celle des *Pseudomonas* est proportionnelle à sa température ( $r=0.813$  ;  $P=0.026$ ).

Le tableau 5.3 renseigne sur les différentes espèces bactériennes identifiées dans l'air de ce couvoir et leur lieu d'isolement.

**Tableau 5.3** : Espèces bactériennes identifiées dans l'air du couvoir **B** et leurs lieux d'isolement.

Bactéries identifiées	Lieux d'isolement
<i>Salmonella spp</i>	Salle d'éclosion
<i>Enterobacter cloacae</i>	Salle d'incubation
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Salle d'éclosion
<i>Proteus vulgaris</i>	Éclosoir
<i>Acinetobacter Baumani</i>	Incubateur 2
<i>Pantoea spp, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus faecium, Streptococcus uberis, Enterococcus faecalis</i>	Incubateurs

### 5.2.2.2 Contamination des surfaces



**Figure 5.15** : Contamination des surfaces au niveau du couvoir **B**.

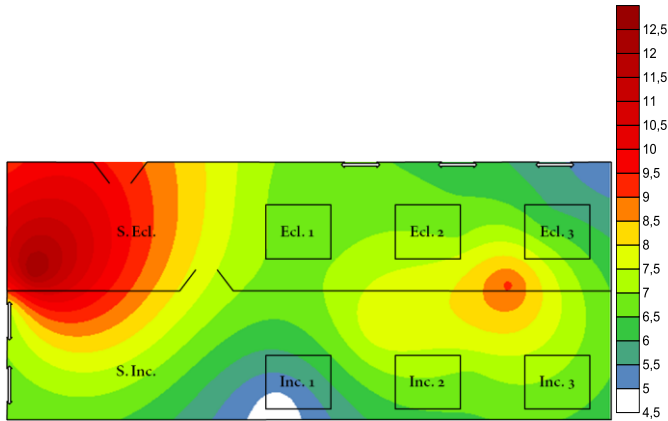
Aucune différence n'a été enregistrée entre les niveaux de contamination des surfaces par la flore totale ( $F=1.350$  ;  $P=0.3124$ ), les entérobactéries ( $F=1.585$  ;  $P=0.2463$ ) et *Pseudomonas spp* ( $F=1.247$  ;  $P=0.3473$ ). Ces niveaux de contamination restent complètement indépendants de ceux de l'air ( $r=0.205$  ;  $P=0.284$  pour la flore totale,  $r=-0.238$  ;  $P=0.254$  pour les entérobactéries et  $r=-0.050$  ;  $P=0.445$  pour *Pseudomonas spp*).

Les plateaux d'éclosion ont connu les plus hauts niveaux de contamination par les staphylocoques-microcoques ( $F=5.747$  ;  $P=0.0095$ ) et les streptocoques-entérocoques ( $F=4.795$  ;  $P=0.0175$ ); mais sans relation avec la concentration de ces germes dans l'air ( $r=-0.054$  ;  $P=0.440$  et  $r=-0.457$  ;  $P=0.091$  respectivement) (Figure 5.15).

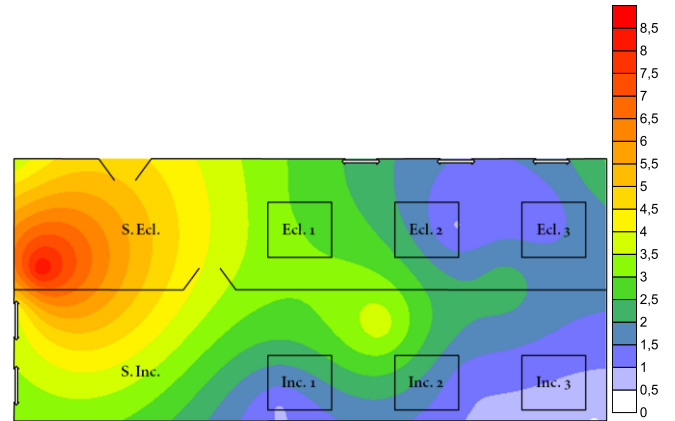
*Salmonella spp* a été isolée à partir des plateaux d'éclosion.

### 5.2.3 Couvoir C

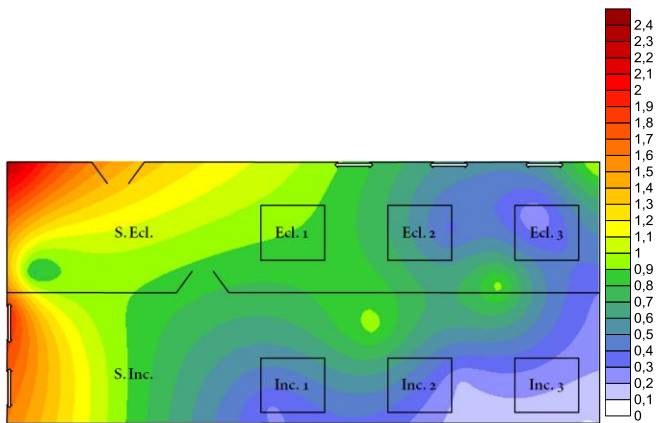
#### 5.2.3.1 Contamination de l'air



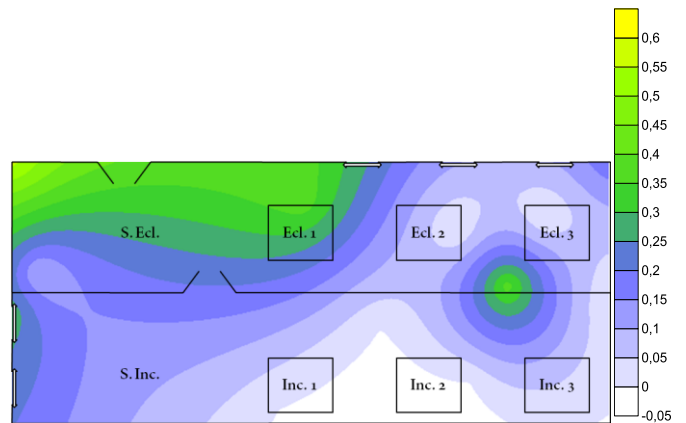
**Figure 5.16 :** Répartition spatiale de la contamination de l'air par la Flore totale (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).



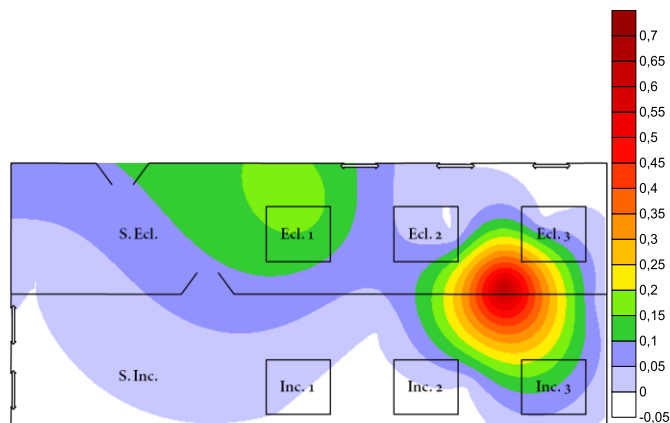
**Figure 5.17 :** Répartition spatiale de la contamination de l'air par les entérobactéries (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).



**Figure 5.18 :** Répartition spatiale de la contamination de l'air par les staphylocoques et les microcoques (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).



**Figure : 5.19 :** Répartition spatiale de la contamination de l'air par les streptocoques et les entérocoques (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).



**Figure 5.20 :** Répartition spatiale de la contamination de l'air par *Pseudomonas* spp (CFU/Cm<sup>2</sup>/h).

L'air de la salle d'éclosion est plus contaminé par la flore aérobie mésophile totale surtout du côté de la porte d'entrée. Un autre point se situe en son fond. Par contre cette

contamination par ces bactéries est plus ou moins homogène dans la salle d'incubation près de la porte qui donne sur la salle d'éclosion et les bouches d'aération mais de manière non significative ( $F=1.826$  ;  $P=0.2125$ ) (Figure 5.16). Les entérobactéries suivent presque la même répartition avec moins de contamination au fond des deux salles (éclosion et incubation) ( $F=2.306$  ;  $P=0.145$ ) (Figure 5.17).

Tous les secteurs de ce couvoir ont presque les mêmes degrés de contamination par les staphylocoques-microcoques avec des concentrations plus importantes près des ouvertures (porte et fenêtres) ( $F=2.204$  ;  $P=0.157$ ) (Figure 5.18).

Les streptocoques-entérocoques quant à eux, ils se concentrent dans la salle d'éclosion au tour de sa porte d'entrée et en son fond un peu entre les deux derniers éclosiers, et au niveau de la salle d'incubation près des fenêtres ainsi qu'à son fond ; néanmoins la différence entre ces niveaux de contamination n'est pas significative ( $F=1.892$  ;  $P=0.201$ ) (Figure 5.19).

Les *Pseudomonas* se localisent au fond des deux salles (éclosion et incubation) là où se trouvent les incubateurs et les éclosiers. Un autre point de concentration se trouve près de la porte d'entrée. La différence entre les niveaux de contamination par ces bactéries entre les différents segments est non significative ( $F=0.788$  ;  $P=0.529$ ) (Figure 5.20).

La contamination de l'air au sein de ce couvoir est indépendante de sa température et de sa charge en eau, sauf pour les streptocoques-entérocoques dont la concentration est négativement corrélée à la température de l'air ( $r=-0.802$  ;  $P=0.029$ ).

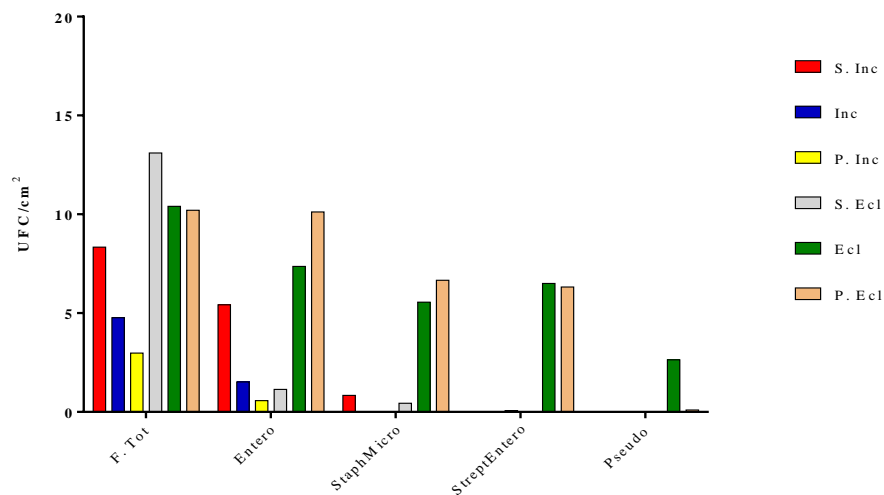
Le tableau 5.4 renseigne sur les différentes espèces bactériennes identifiées dans l'air de ce couvoir et leur lieu d'isolement.



**Tableau 5.4** : Espèces bactériennes identifiées dans L'air du couvoir C et leurs lieux d'isolement.

Bactéries identifiées	Lieux d'isolement
<i>E. coli</i>	Éclosoir 1
<i>Salmonella spp</i>	Éclosoir 1
<i>Pasteurelle pneumotropica</i>	Salle d'éclosion, Éclosoir 2
<i>Acinetobacter baumani</i>	Salle d'incubation
<i>Pantoea spp</i>	Éclosoir 2
<i>Proteus penneri</i>	Salle d'éclosion, Incubateur 2, Éclosoir 2
<i>Proteus mirabilis</i>	Salle d'éclosion
<i>Enterobacter cloacae</i>	Salle d'éclosion, Éclosoir 2
<i>Staphylococcus aureus</i>	Salle d'éclosion, Salle d'incubation
<i>Pseudomonas aéruginosa</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> et <i>Listeria spp</i>	Salle d'éclosion, Salle d'incubation

### 5.2.3.2 Contamination des surfaces



**Figure 5.21** : Contamination des surfaces au niveau du couvoir C.

Toutes les surfaces contrôlées de ce couvoir ont presque les mêmes niveaux de contamination par la flore totale ( $F=1.061$  ;  $P=0.425$ ), les entérobactéries ( $F=1.579$  ;  $P=0.234$ ), les staphylocoques-microcoques ( $F=2.871$  ;  $P=0.058$ ), les streptocoques-entérocoques ( $F=2.354$  ;  $P=0.099$ ) et les *Pseudomonas spp* ( $F=1.143$  ;  $P=0.386$ ). Pas de

corrélation surfaces/air pour tous les germes ( $r=0.260$ ,  $P=0.194$  pour la flore totale;  $r=-0.184$ ,  $P=0.272$  pour les staphylocoques-microcoques et  $r=0.037$ ;  $P=0.452$  pour streptocoques-entérocoques) sauf pour les streptocoques-entérocoques ( $r=0.526$ ;  $P=0.032$ ) et *Pseudomonas spp* ( $r=0.949$ ;  $P<0.001$ ).

Les salmonelles ont été isolées à partir des parois d'une machine d'éclosion.

#### 5.2.4 Comparaison entre les trois couvoirs et contamination des œufs à couver

L'air à l'intérieur du couvoir *C* a enregistré les plus hauts niveaux de contamination par la flore aérobique mésophile totale et les *staphylocoques-microcoques* par rapport aux deux autres couvoirs qui ont le même niveau ( $F=17.78$ ;  $P<0.0001$  et  $F=4.600$ ;  $P=0.018$  respectivement). Aucune différence n'a été enregistrée entre les charges de l'air dans les trois couvoirs par les *entérobactéries*, les *streptocoque-entérocoques* et *Pseudomonas spp* ( $F=2.218$ ,  $P=0.1264$ ;  $F=2.819$ ,  $P=0.0755$  et  $F=0.7735$ ,  $P=0.470$  respectivement).

La contamination des surfaces (des trois couvoirs) par les différents groupes bactériens est la même (Flore totale :  $F=1.622$ ,  $P=0.207$ ; Entérobactéries :  $F=1.815$ ,  $P=0.173$ ; Staphylocoques-microcoques :  $F=2.607$ ,  $P=0.083$ ; Streptocoques-entérocoques :  $F=0.123$ ;  $P=0.884$ ; *Pseudomonas* :  $F=1.059$ ,  $P=0.354$ ).

Le tableau 5.5 informe sur les différentes espèces bactériennes contaminant les œufs à couver dans les trois couvoirs.

**Tableau 5.5:** Bactéries contaminant les œufs à couvrir au niveau des trois couvoirs.

Œufs	Couvoir A	Couvoir B	Couvoir C
Intérieur	- <i>Proteus penneri</i> - <i>Pantoea spp</i>	- <i>Ochrobactrum anthropi</i> - <i>Proteus penneri</i>	- <i>Pasteurella pneumotropica</i> - <i>Proteus penneri</i>
Extérieur	- <i>Pasteurella Pneumotropica</i> - <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> - <i>Proteus penneri</i> - <i>Pantoea spp</i>	- <i>Pasteurella pneumotropica</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Proteus penneri</i> - <i>Pantoea spp</i>	- <i>Pasteurella pneumotropica</i> - <i>Proteus penneri</i>

La flore de contamination externe des œufs à couvrir est représentée essentiellement par *Proteus penneri* et *Pasteurella pneumotropica* avec des différences entre les niveaux selon l'origine des œufs. Aucune différence significative n'a pu être trouvée entre la contamination interne et externe par les différentes espèces bactériennes identifiées ( $P>0.5$ ).

L'étude de la sensibilité de ces espèces bactériennes aux antibiotiques a donné les résultats suivants :

- Les *Proteus penneri* de la contamination externe des œufs ont les profils de résistance suivants : AMP-AMC-CEF-FOX-CAZ-CRO-NAL-TCY-COL-NIT, AMP-AMC-CEF-FOX-CAZ-NAL-TCY-COL-NIT, AMP-AMC-CEF-NAL-OFX-TCY-COL, AMP-CEF-NAL-TCY-COL-NIT, AMP-CEF-NAL-TCY-COL-SXT-NIT. Alors que ceux issus de la contamination interne ont les profils : AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-TCY-COL-NIT, AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-NAL-TCY-COL-NIT, AMP-CEF-NAL-GEN-TCY-COL-SXT-NIT, AMP-AMC-CEF-NAL-TCY-COL-NIT et AMP-CEF-NAL-TCY-COL-NIT ;
- Les profils de résistance chez les *Pantoea spp* isolées de l'extérieur des œufs sont : AMP-COL et AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-COL. Ceux des souches isolées de l'intérieur des œufs sont : AMP-AMC-CEF-NAL-SXT et AMP-AMC-CEF-NAL-TCY ;
- Chez *Pasteurella pneumotropica* récupérées de l'extérieur des œufs les profils de résistances suivant ont été trouvés: AMX-AMP-CRO-CHL-SXT, AMX-TCY-CHL-SXT et AMX-AMP-CRO ; Pour celles isolées des milieux intérieurs des œufs, les profils sont : AMX-AMP-CRO-CHL-SXT et CRO-CHL-SXT ;

- *Yersinia pseudotuberculosis* avait le profil de résistance : AMP-AMC-CEF-NAL-TCY.
- *Ochrobactrum anthropi* isolé de l'intérieur des œufs est sensible à tous les antibiotiques testés à part la colistine.
- Le profil *ERY-CLI-FUS-BCT-FOS* est le seul identifié chez les souches de *Staphylococcus aureus*.

### 5.3. Discussion

A fin de connaître le rôle des couvoirs comme étant une origine probable des bactéries responsables des cas d'omphalites enregistrés en élevage; plusieurs points concernant les mesures de sécurité sanitaire relatives à la structure (implantation, agencement, circulation, ventilation), à la gestion des couvoirs et aux procédures de nettoyage et de désinfection ont été relevés :

#### 5.3.1 Implantation, structure et fonctionnement des couvoirs

##### 5.3.1.1 L'implantation

Les endroits d'implantation des trois couvoirs **A**, **B** et **C** sont très mal choisis.

Le couvoir **A** et le couvoir **B** se trouvent à proximité d'habitations et d'axes routiers d'une importante circulation de véhicules transportant des animaux y compris des volailles et des produits animaux.

Quand au couvoir **C**, il est situé dans une zone industrielle d'une minoterie (générant des poussières) et à moins de 50m d'un fleuve, ce qui augmente le risque de transmission des germes par plusieurs modalités notamment par voie aérienne.

Les abords non dégagés des couvoirs **A** et **C** (présence d'arbres et d'herbes à proximité) favorisent la rétention des poussières contaminantes et servent de refuges pour les insectes, les reptiles et des oiseaux vecteurs de germes.

### 5.3.1.2 L'agencement

Malgré que le couvoir *A* soit divisé en trois parties, une réservée à l'incubation, une deuxième au transfert et une dernière à l'éclosion ; quelques erreurs sont relevées surtout l'entrée aux salles d'incubation et d'éclosion ,se faisant après empreinte du couloir de transfert servant aussi à recevoir les œufs à couvrir, à expédier les poussins éclos et à éliminer les déchets de l'éclosoir. Ainsi les risques de contamination en retours (de la salle d'éclosion vers la salle d'incubation) et de contamination croisée des œufs, des poussins, du matériel et du personnel se trouvent augmentés d'une manière très significative.

Ce couvoir dispose de SAS sanitaire bien équipé et bien conçu à part la cuve de toilette à la turque qui est proscrite du fait qu'elle favorise la propagation des germes par les pieds.

Les couvoirs *B* et *C* sont divisés en deux compartiments, une salle d'incubation et une autre réservée à l'éclosion avec absence totale du couloir de transfert. Ainsi, les deux salles sont contiguës ce qui favorise et facilite le passage des germes du secteur souillé (salle d'éclosion) vers le secteur propre (salle d'incubation), selon Goater (1988) [42], la salle d'éclosion et les éclosoirs sont les plus propices à la multiplication et à la dissémination des germes, ce qui à été prouvé dans le cas de nôtre étude par les résultats des prélèvements de l'ambiance et des surfaces après l'éclosion.

Pour le couvoir *C*, la salle d'éclosion se trouve directement à l'entrée du couvoir, ce qui favorise la dissémination des germes de l'extérieur vers l'intérieur et contaminer les poussins à l'éclosion (et l'inverse aussi, en contaminant l'environnement immédiat du couvoir surtout son entrée) ce qui assure la pérennité de la contamination.

Par ailleurs la sortie des déchets, la livraison des poussins et la réception des œufs à couvrir se fait par la même porte se trouvant du côté des éclosoirs. Les germes portés par ces derniers peuvent se déposer sur les œufs à couvrir prêts à l'incubation, sur les poussins nouvellement éclos, sur le matériel reçu et se disséminer même dans l'air ambiant.

### 5.3.1.3 Le fonctionnement et la circulation

Il est très évident que les erreurs de conception et d'agencement se répercutent négativement sur le fonctionnement et la circulation du personnel, du matériel, des œufs à couvrir, des poussins et de l'air.

Pour le couvoir *A*, le couloir de transfert servant de carrefour entre la salle d'incubation et celle d'éclosion, représente un point d'entrecroisement des œufs à couvrir, du matériel souillé et propre, des poussins et des déchets des éclosiers chargés en éléments contaminants.

Pour les couvoir *B* et *C*, en raison de l'absence du couloir de transfert et la mauvaise situation de la salle d'éclosion à côté de la porte d'entrée des couvoirs fait que la salle d'éclosion soit un lieu d'entrecroisement des œufs à couvrir, des poussins, du matériel et des déchets. Malheureusement ce mauvais agencement ne permet en aucun cas le respect de la circulation en avant sans possibilité de retour. On note des retours très fréquents en arrière, des œufs à couvrir, parfois des poussins et surtout du personnel (sans prise de mesures préventives).

### 5.3.1.4 La ventilation

Les bouches d'aération des trois couvoirs ne sont pas bien conçues ni bien disposées et permettent l'introduction d'air contaminé chargé de poussières et de contaminants. Cet air introduit n'est pas filtré et sa circulation n'est pas maîtrisée, malgré l'existence d'une ventilation dynamique. Ce qui permet une dissémination des germes introduits de l'extérieur et ceux provenant des *éclosiers* [45].

La survie et la densité de ces microorganismes au sein d'un couvoir dépendent de l'endroit, la température, l'humidité et la présence de matières organiques (présence de nutriments nécessaires à leur survie voir même leur multiplication).

Les aérosols et les poussières montrent généralement un comportement aérodynamique complexe en fonction d'une multitude de facteurs physiques tels que : les mouvements browniens (dancer ou mouvement zig-zag), le gradient électrique, le champ de gravité, la force d'inertie (force due à la masse), les radiations électromagnétiques, la densité de la particule et le gradient de température et d'humidité.

Un autre élément important dans la dissémination des contaminants (bio-aérosols) est représenté par leur capacité de survivre les différentes fluctuations des facteurs physico-chimiques les entourant. Ces facteurs participent aussi à la création, concentration et la sédimentation des dites particules. Associés avec d'autres facteurs (température, déshydratation, irradiation, oxydation...), ils peuvent menacer la survie des bio-aérosols [203].

Pour ce qui est de la survie des germes dans l'air, *Wathes et al. (1991)[204]* rapportent qu'*E. coli* ne résiste que 2 minute à 30° et une hygrométrie inférieure de 50%.

Northcutt et al. (2004) [205] n'ont trouvé aucune corrélation entre l'humidité de l'air et sa charge en entérobactéries, mais sa charge en flore totale était positivement corrélée avec son humidité. Il est aussi prouvé que les températures supérieures à 24°C ont un effet néfaste sur la survie et la charge bactérienne (Gram positif et négatif) de l'air [206, 207]. Cette donnée confirme en partie l'absence de toute corrélation entre les niveaux de contamination de l'air au sein des couvoirs et les températures enregistrées.

#### 5.3.1.5 Le Sol, les parois et le plafond

Les sols carrelés et les parois entièrement couvertes d'enduit lisse (dans le couvoir **A** et **B**) et de faïences (couvoir **C**) permettent un nettoyage et une désinfection aisés. Mais le fait, qu'ils ne soient pas raccordés entre eux par des arrondis, permet aux salissures d'y persister, représentant ainsi une source importante de germes. Les joints entre les carrelages permettent le maintien des souillures et des contaminants.

Les éléments de la charpente de la toiture apparents au niveau du couvoir **A** très difficiles à atteindre et ne subissant aucun nettoyage ni désinfection, sont des sources de germes assurant la pérennité des contaminants portés par les poussières et les particules de duvet, et de refuge pour les insectes vecteurs de germes.

Les jonctions non comblées des parois avec la toiture du couvoir **A**, les grandes ouvertures d'aération non grillagées des couvoirs **B** et **C**, permettent l'introduction des oiseaux, des insectes, des rongeurs et parfois de reptiles (couvoir **A** et **C**) vecteurs très redoutables de germes surtout *salmonelles*. [208].

### 5.3.2. Les œufs à couvrir

Le fait qu'ils subissent une fumigation (au couvoir *A* et *C*) le jour de leur mise en incubateurs ne réduit pas le taux de leur contamination surtout interne, vu qu'ils ne subissent aucune désinfection au niveau des élevages de reproducteurs et les conditions de stockage et de transport vers le couvoir (surtout température et hygrométrie) ne sont pas respectées. Il est fort probable qu'ils s'infectent au niveau des élevages de reproducteurs et que les germes atteignent les milieux intérieurs (par aspiration) suite au refroidissement après la ponte.

Pour le couvoir *B*, les œufs à couvrir ne font l'objet d'aucune désinfection et les germes se trouvant sur les coquilles (issus généralement de la litière des nids souillée par les fientes et les poussières déposées sur elles et sur les œufs eux mêmes) vont contaminer le matériel et l'air à l'intérieur des machines et des salles.

Selon Cortes et al. (2004) [64] et Al-Khalaf et al. (2010) [209] les œufs à couvrir peuvent véhiculer des germes tels : *Eschérichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp* et *Citrobacter diversus*. Selon Cox et al (1997) [210], ils peuvent même être des porteurs de *Salmonelles*.

La mauvaise hygiène des œufs à couvrir est prouvée par l'isolement de bactéries témoins de contamination fécale ou environnementale (Entérobactéries et *Ochrobactrum anthropi*). Ces bactéries ont présenté des profils de résistance alarmants et pour certains semblables à ceux rencontrés chez les poussins morts d'omphalites.

### 5.3.3 Le personnel

Le non port des tenues de travail spéciales augmente le risque de transmission d'agents pathogènes par le biais des vêtements et des chaussures. Ceci est aggravé par le non respect des post de travail.

Le non respect des règles relatives à l'hygiène (douches, lavage des mains...) du personnel tout en négligeant le principe de la marche en sens unique et le contact avec des



employés opérant dans d'autres élevages, et d'autres couvoirs sont pour autant des éléments de très haut risque.

L'absence de pédiluves dans le couvoir **A** et **B**, augmente le risque d'introduction de germes de l'extérieur entraînés par les chaussures du personnel à l'intérieur des salles.

D'après Yagani et al. (2004) [211], Butcher et Miles (2003) [212] et Rodgers et al. (1999) [213], le personnel peut être considéré comme une source de germes pour les oiseaux, en abritant certains agents pathogènes communs aux humains et aux oiseaux, ou agir simplement comme vecteur mécanique et contamine les cheptels par les chaussures souillées, les vêtements extérieurs, les cheveux et les mains.

#### 5.3.4 Les véhicules de transport des œufs à couver et des poussins

La désinfection effectuée par le propriétaire du couvoir « **A** » sur le véhicule de transport des œufs à couver reste très insuffisante pour un bon contrôle des contaminations assurées par ces derniers qui ne subissent pas cette opération au niveau des élevages de reproducteurs. Cela peut entraîner la contamination des œufs à couver pendant cette phase.

Les véhicules de livraison des poussins appartenant dans la majorité des cas aux clients ne sont ni nettoyés ni désinfectés et surtout s'ils servent à effectuer d'autres services (transport de matériaux de construction, de volailles, d'œufs, de fumier, de carcasses...), peuvent représenter un facteur de contamination des poussins transportés et d'introduction de germes dans les couvoirs.

L'absence de rotulues à l'entrée des trois exploitations, augmente le risque de contamination par les germes portés par les pneus et entraînés ensuite par les chaussures du personnel à l'intérieur des salles.

#### 5.3.5. Gestion de l'hygiène des couvoirs

Le contrôle bactériologique de l'ambiance des trois couvoirs permet de tirer les remarques suivantes :

Malgré la désinfection suivie par les trois accoueurs le niveau d'hygiène reste pour les trois exploitations non satisfaisant (Très mauvais pour le couvoir **C** et **B** et moyen pour

le couvoir **A**). On constate que pour le couvoir **B** et **C** il n'y a pas de corrélation entre les niveaux hygiéniques et la séparation des deux secteurs propre et souillé. Cela est dû au non respect du principe de la circulation en sens unique et au retour de l'air au moment de l'éclosion chargé en germes de la salle d'éclosion vers la salle d'incubation.

En plus l'air introduit dans les couvoirs et les machines ne subit aucune filtration et est chargé de poussières provenant du voisinage (habitations, champ, axe routier pour le couvoir **A** et **B** et la minoterie et la rivière pour le couvoir **C**).

Pour le couvoir **A**, on remarque que la salle d'éclosion représente le plus haut niveau de contamination de l'air, cette dernière se localise le plus vers les ouvertures qui ne sont pas munies de filtres laissant pénétrer une charge importante de germes qui contaminent les poussins à l'éclosion et les surfaces (parois et matériel).

Pour le couvoir **B**, le niveau de contamination de la salle d'éclosion est proche de celui de la salle d'incubation ; et aucune différence n'a été enregistrée entre les niveaux de contamination de leurs surfaces. Cela est dû à l'absence de couloir de transfert et la salle d'éclosion qui s'ouvre directement sur la salle d'incubation par une porte à travers laquelle s'effectue le retour de l'air chargé de germes issus de l'éclosoir vers la salle d'incubation.

Pour le couvoir **C** la salle d'éclosion représente le plus haut niveau de contamination; cela s'explique par le fait que la salle d'éclosion soit située juste à l'entrée du couvoir par conséquent tous les germes ce trouvant à l'extérieur se dissémine d'emblée dans la salle d'éclosion et peuvent contaminer les poussins à l'éclosion et les œufs à couver prêts à l'incubation. Quand à la contamination des surfaces qui a connu une homogénéité entre la salle d'éclosion et la salle d'incubation, cela est dû à la proximité de la salle d'éclosion et la salle d'incubation comme il a été signalé pour le couvoir **B**.

L'efficacité de la désinfection est fortement influencée par le temps de contact entre la solution désinfectante et la surface, la température, la concentration du désinfectant et le pH de l'eau [214]. Aucun de ces facteurs n'est surveillé par les trois accoueurs de notre étude.

### 5.3.6 Contrôles bactériologiques au niveau des couvoirs

Les trois accouveurs ne pratiquent pas de contrôles bactériologiques des œufs à couver, des surfaces et de l'air. Les conséquences de la présence des différentes espèces bactériennes isolées de l'air dans les trois couvoirs, sera discutée dans la partie bactéries isolées des omphalites chez les poussins.

## **CHAPITRE 6**

### **BACTERIES RESPONSABLES D'OMPHALITES ET LEURS SENSIBILITES AUX ANTIBIOTIQUES**

#### 6.1 Materiel et methodes : Identification et sensibilité aux antibiotiques des bacteries responsables d'omphalites chez les poussins

114 poussins âgés de 1 à 5 jours et morts en présentant des symptômes d'omphalite ont été collectés de treize (13) différents élevages de poulet de chair situés dans la wilaya de Constantine.

La période d'expérimentation s'est étalée de Mars 2015 à Août 2015 soit une durée totale de 6 mois.

Le matériel utilisé dans cette partie est semblable à celui utilisé en laboratoire de bactériologie médicale.

##### 6.1.1 Isolement des bactéries

###### 6.1.1.1 Identification des bactéries

Chaque poussin est mis sur son dos dans un petit plateau de dissection stérile. Sa paroi abdominale est stérilisée avec une gaze imbibée d'alcool à 70° et elle est en suite ouverte à l'aide d'une paire de ciseaux fins stérile. La vésicule vitelline ainsi mise à découvert est sectionnée et son contenu est utilisé (à l'aide d'anse de platine) pour ensemencher les milieux de culture suivants : gélose nutritive, gélose MacConkey, gélose Chapman et gélose au sang frais.

Une petite quantité de ce contenu est mise en suspension dans 09 ml d'eau peptonée tamponnée pour la recherche des salmonelles (selon le protocole ISO6579/2002). Le tout est incubé à 37°C pendant 24 heures.

Le type de colonies les plus dominantes sur un milieu par rapport aux autres est considéré comme celui de la bactérie à l'origine de l'omphalite. Une colonie est alors ré-isolée sur le même milieu puis (après incubation à 37°C pendant 24 heures) sur gélose nutritive ou gélose au sang pour les streptocoques.

Chaque culture pure a fait l'objet d'une identification (selon le groupe bactérien) à l'aide de galeries *Analytical Profile Index API 20 E* (bio-Mérieux, France) pour les *entérobactéries* et *Pseudomonas spp*, *API 20 Strep* (bio-Mérieux, France) pour les *streptocoques* et les *entérocoques* et le test de la coagulase (plasma de lapin) pour l'identification de *Staphylococcus aureus*.

## 6.1.2 Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries identifiées

### 6.1.2.1 Réalisation de l'antibiogramme

L'antibiogramme a été réalisé selon la méthode standard de diffusion en milieu gélosé avec des disques imprégnés d'antibiotiques et la mesure des diamètres (méthode Kirby Bauer recommandée par l'OMS) [109].

L'antibiogramme est réalisé sur gélose Muller-Hinton (pour les *entérobactéries*, les *staphylocoques*, les *Pseudomonas* et autres Gram-négatif non fermentaires) ou Muller-Hinton additionnée de 5% de sang de mouton pour les *streptocoques*, *Pasteurella spp* et *Listeria spp*.

L'inoculum est préparé à partir d'une culture fraîche. Une colonie (d'*entérobactérie* ou de *Pseudomonas*) ou deux (de *staphylocoques* ou de *streptocoques*) sont mises en suspension dans 2 ml d'eau physiologique stérile (en les agitant au vortex). La densité de l'inoculum est ajustée à 0.5 McFarland en ajoutant soit un fragment de colonie ou de l'eau physiologique stérile.

L'inoculum est dilué en suite au 1/10 pour les *entérobactéries*, les *staphylocoques* et les *Pseudomonas* ; mais pour les *streptocoques*, il est utilisé sans dilution.

Les boîtes de pétri sont séchées à l'étuve à 37°C. Un écouvillon sec et stérile est trempé dans l'inoculum puis pressé contre les parois du tube afin de le décharger au maximum. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas, en

stries serrées. Cette opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois en pivotant l'écouvillon sur lui-même. En fin l'écouvillon est passé sur la périphérie de la gélose.

Les disques d'antibiotiques sont disposés selon leur classification en famille grâce à un distributeur. Une légère pression est exercée sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu.

Les BLSE ( $\beta$ -lactamases à spectre étendu) ont été recherchées par *la* méthode de synergie en plaçant deux disques (côte à côte à 3cm de distance mesurés centre à centre), l'un contenant l'association amoxicilline-acide clavulanique et l'autre une cephalosporine de 3<sup>e</sup> génération.

Les boîtes de Pétri sont incubées en aérobiose 18h à 37°C. Pour les *Listria*, les boites sont incubées en anaérobiose dans une jarre.

Un contrôle de qualité interne a été fait en utilisant des souches ATCC. (Tableau 6.1)

**Tableau 6.1:** Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité. [90],

Antbiotiques testés	Charge du disque	E.coli ATCC 25922	P.aeruginosa ATCC 27853	S.aureus ATCC 25923	S.pneumoniae ATCC 49619
pénicilline	10 UI	-	-	26-37	24-30
Pénicilline+Novobiocine	(10UI/30µg)	-	-	30-36	24-30
Ampicilline	10µg	16-22	-	-	30-36
Amoxicilline+Acide clavulanique	20/10µg	18-24	-	28-36	-
Oxacilline	1µg	-	-	18-24	-
Céfalotine	30µg	15-21	-	-	-
Céfotaxime	30µg	-	-	-	31-39
Céfoxitine	30µg	-	-	23-29	-
Céftiofur	30µg	26-31	14-18	-	-
Kana mycine	30µg	17-25	-	19-29	-
Gentamicine	10µg	19-26	16-21	19-27	-
Triméthoprim+Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	23-29	-	24-32	-

Tétracycline	30µg	18-25	-	24-30	27-31
Acide Nalidixique	30µg	24-29	-	-	-
Colistine	10µg	11-17	11-17	-	-
Nitrofurantoin	10µg	20-25	-	-	-
Erythromycine	15µg	-	-	22-0	25-30
Chloramphénicol	30µg	21-27	-	-	23-27
Vancomycine	30µg	-	-	17-21	20-27
Clindamycine	2µg	-	-	24-30	19-25
Tilmicosine	15µg	-	-	-	-

#### 6.1.2.2 Antibiotiques testés et interprétation

Les différents antibiotiques testés sont représentés dans le tableau 6.2



**Tableau 6.2:** Antibiotiques testés

<b>Bactéries</b>	<b>Antibiotiques</b>
Entérobactéries	AMP 10µg ; AMC 20/10µg ; CEF 30µg ; CTX 30µg ; FOX 30µg ; CAZ 30µg ; CRO 30µg ; IPM 10µg ; NAL 30µg ; OFX 5µg ; CIP 5µg ; GEN 10µg ; KAN 30µg ; AMK 30µg ; TCY 30µg ; CHL 30µg ; COL 10µg ; SXT 1,25/23,75µg ; NIT 300µg.
<i>Pseudomonas spp</i>	AMC 20/10µg ; PIP 30µg ; TCC 75/10µg ; ATM 30µg ; TIO 30µg ; CAZ 30µg ; IPM 10µg ; CIP 5µg ; LEV 5µg ; AMK 30µg ; GEN 10µg ; TOB 10µg ; RIF 30µg ; COL 10µg
Staphylocoques	AMC 20/10µg ; PEN 10UI ; FOX 30µg ; TCC 75/10µg ; PNV 10UI/30µg ; OXA 1µg ; OFX 5µg ; VAN 30µg ; SXT 1,25/23,75µg ; ERY 15µg ; GEN 10µg ; AMK 30µg ; CLI 2µg ; KAN 30µg ; PRI 15µg ; TCY 30µg ; CHL 30µg ; RIF 5µg ; FUS 10µg ; BCT 130µg ; FOS 50µg
Entérocoques	AMP 10µg ; PEN 10UI ; LEV 5µg ; ERY 15µg ; TIL 15µg ; VAN 30µg ; TEC 30µg ; SXT 1,25/23,75µg ; TCY 30µg ; CHL 30µg ; NIT 300 µg ; RIF 5µg ; PRI 15µg
Streptocoques	AMP 10µg ; ERY 15µg ; TCY 30µg ; VAN 30µg ; TEC 30µg ; CHL 30µg ; RIF 5µg ; PRI 15µg ; LEV 5µg ; FOT 300µg
<i>Listeria spp</i>	AMX 10µg ; PEN 10UI ; NAL 30µg ; ERY 15µg ; RIF 5µg ; TCY 30µg ; CHL 30µg ; SXT 1,25/23,75µg
<i>Pasteurella spp</i>	AMP 10µg ; AMC 20/10µg ; CRO 30µg ; CTX 1,25/23,75µg ; CHL 30µg ; TCY 30µg.
<i>Acinetobacter spp</i>	CAZ 30µg ; IPM 10µg ; CIP 5µg ; OFX 5µg ; GEN 10µg ; AMK 30µg ; CHL 30µg ; TCY 30µg ; SXT 1,25/23,75µg
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	IPM 10µg ; SXT 1,25/23,75µg ; COL 10µg ; GEN 10µg ; AMK 30µg ; CIP 5µg

Le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse électronique. Les résultats (dans leur majorité) sont interprétés par rapport aux limites critiques définies dans le document : Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale de l'institut Pasteur d'Algérie (2011) [90]. Pour les antibiotiques testés et ne figurant pas sur ce document, on s'est servi des documents publiés par le CASFM-EUCAST (2015) [110] et le CLSI-FDA (2013) [111]. Ainsi les bactéries sont classées en **R** : résistante, **I** : intermédiaire ou **S** : sensible. Pour

*Ochrobactrum anthropi* les valeurs critiques définies pour *Acinetobacter* et *Pseudomonas* ont été utilisées selon les recommandations du CASFM et du CLSI.

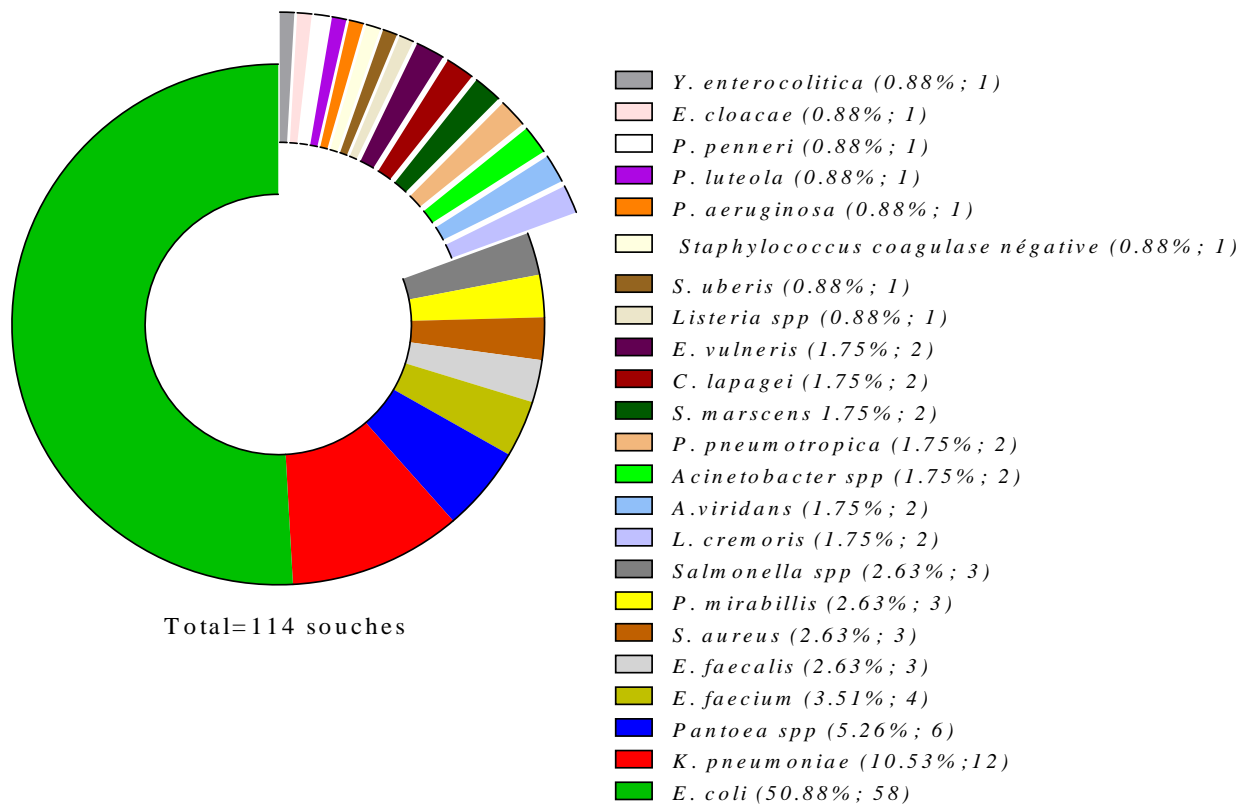
L'image de synergie peut-être en bouchon de champagne caractéristique de la BLSE ou bien en entonnoir.

## 6.2 Resultats

### 6.2.1. Bactéries isolées d'omphalites

Des 114 souches bactériennes isolées des cas d'omphalites, les entérobactéries sont les plus fréquentes en étant responsables de 79.8% (n=91) des cas. Elles sont représentées essentiellement par *E. coli* (n=58), *K. pneumoniae* (n=12) et *Pantoea spp* (n=6). Les autres entérobactéries n'ont été isolées que dans un ou trois cas maximum. 1.75% des espèces bactériennes identifiées sont des *Pseudomonas spp*.

Les gram-positif sont représentés essentiellement par les streptocoques et les entérocoques qui comptent 6.14% de tous les isolats. Ils sont représentés principalement par *Enterococcus faecium* (n=4) et *Enterococcus faecalis* (n=3). Les autres espèces appartenant à ce groupe étaient identifiées dans un seul cas chacune. Les staphylocoques quant à eux, ils sont responsables de 3.5% des infections des ombilics des poussins (*Figure 6.1*).

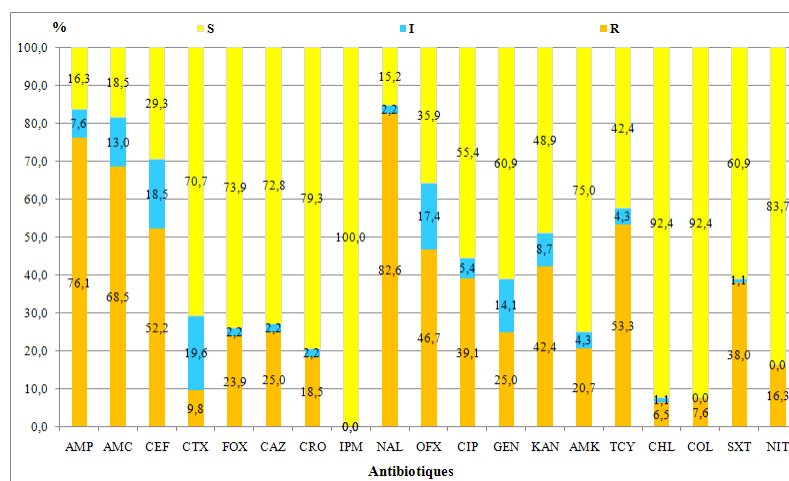


**Figure 6.1:** Fréquences d'isolement des différentes espèces bactériennes responsables d'omphalites chez les poussins

## 6.2.2 Sensibilités aux antibiotiques

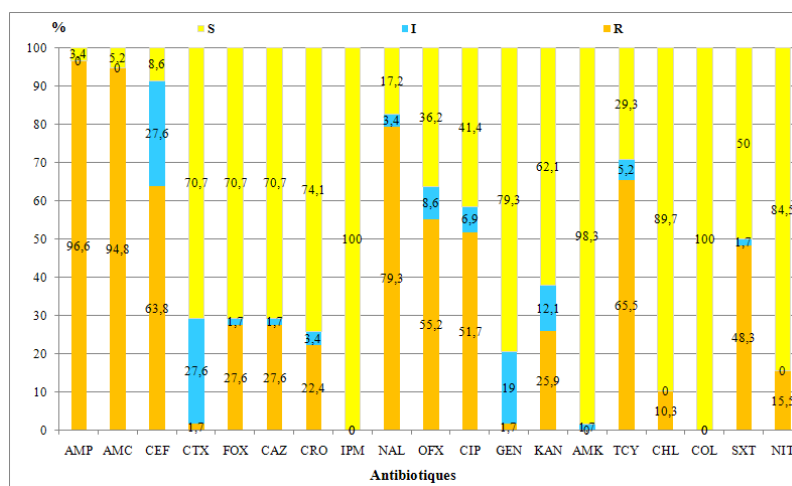
### 6.2.2.1 Entérobactéries

Les entérobactéries isolées dans cette étude présentent des résistances à presque toutes les molécules antibiotiques testées mais à des degrés différents (Figure 6.2).



**Figure 6.2:** Sensibilité des entérobactéries identifiées aux différents antibiotiques testés.

Les souches d'*E. coli* isolées sont très résistantes aux quinolones, aux cyclines et aux  $\beta$ -lactamines avec d'inquiétantes résistances à certaines céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération (Figure 6.3).



**Figure 6.3 :** Sensibilité d'*E. coli* aux différents antibiotiques testés.

Au total, 35 profils de résistance ont été enregistrés. Ils sont représentés dans le tableau 6.3

**Tableau 6.3** : Profils de résistance identifiés chez *E. coli* et leur fréquences.

Profil	Fréquence %
NAL	1,8
NAL-TCY	1,8
AMP-AMC-TCY	1,8
AMP-AMC-CEF	5,4
AMP-AMC-CEF-NAL	1,8
AMP-AMC-CEF-GEN	1,8
AMP-AMC-CEF-NIT	1,8
AMP-AMC-CEF-NAL-TCY	3,6
AMP-NAL-OFX-CIP-TCY	1,8
AMP-AMC-CEF-NAL-TCY-SXT	1,8
AMP-AMC-CEF-NAL-OFX-CIP	3,6
AMP-AMC-CEF-NAL-OFX-CIP-TCY	1,8
AMP-AMC-CEF-NAL-OFX-TCY-SXT	1,8
AMP-AMC-CEF-NAL-OFX-CIP-NIT	3,6
AMP-AMC-CEF-NAL-OFX-CIP-TCY-SXT	17,9
AMP-AMC-CEF-NAL-OFX-CIP-KAN-TCY-SXT	3,6
AMP-AMC-CEF-NAL-OFX-CIP-GEN-TCY-SXT	1,8
AMP-AMC-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-TCY-SXT	3,6
AMP-AMC-CEF-NAL-OFX-CIP-TCY-SXT-NIT	1,8
AMP-AMC-CEF-NAL-OFX-CIP-KAN-TCY-CHL	1,8
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-GEN-TCY	1,8
AMP-AMC-CEF-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-TCY-SXT	3,6
AMP-AMC-CEF-NAL-OFX-CIP-KAN-TCY-SXT-NIT	1,8
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-GEN-NIT	1,8
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-OFX-CIP	1,8
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-KAN-TCY-SXT	1,8
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-KAN-TCY-NIT	1,8
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-OFX-KAN-TCY-SXT	1,8
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-OFX-CIP-KAN-NIT	1,8
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-OFX-CIP-TCY-CHL	3,6
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-OFX-CIP-KAN-TCY-SXT	7,1
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-OFX-CIP-TCY-CHL-SXT	1,8
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-NAL-OFX-CIP-KAN-TCY-SXT-NIT	1,8
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-OFX-CIP-GEN-TCY-CHL	1,8
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK-TCY-CHL-SXT	1,8

En ce qui concerne *K. pneumoniae*, les plus hauts niveaux de résistance ont été notés essentiellement pour les aminosides, les quinolones et à un moindre degré les  $\beta$ -lactamines (Figure 6.4). Le tableau 6.4 présente les dix différents profils de résistance identifiés chez cette espèce.

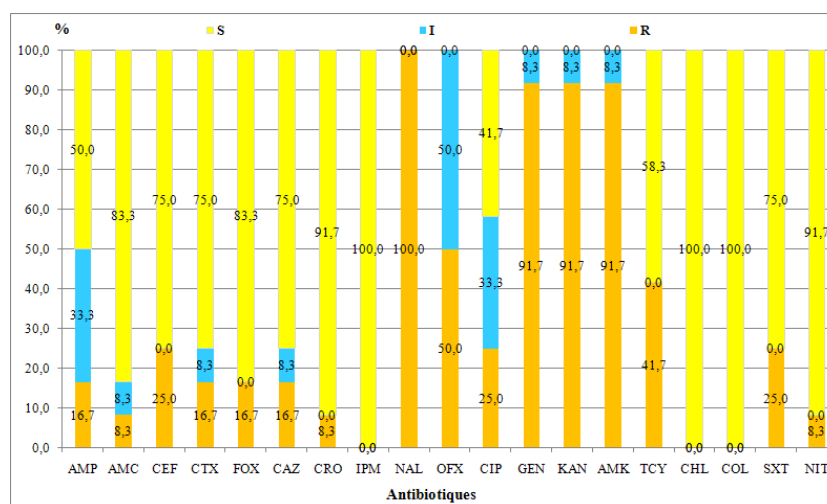
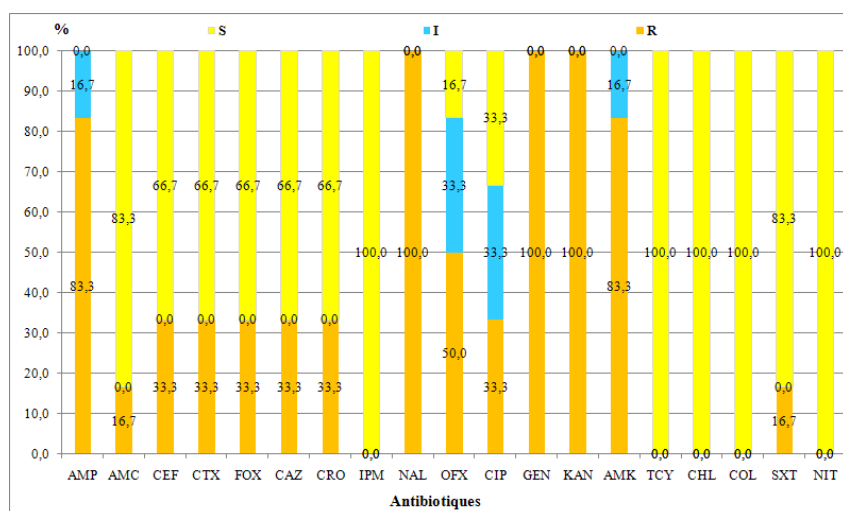


Figure 6.4 : Sensibilité de *K. pneumoniae* aux différents antibiotiques testés.

Tableau 6.4 : Profils de résistance identifiés chez *K. pneumoniae* et leur fréquences.

Profil	Fréquence %
<i>NAL-GEN-KAN-AMK-SXT</i>	8,3
<i>NAL-OFX-GEN-KAN-AMK-TCY</i>	16,7
<i>AMP-NAL-OFX-GEN-KAN-AMK</i>	8,3
<i>NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK</i>	16,7
<i>NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK-TCY</i>	8,3
<i>AMP-NAL-OFX-GEN-KAN-AMK-SXT</i>	8,3
<i>AMP-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK-TCY</i>	8,3
<i>AMP-CEF-CTX-FOX-CAZ-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK-NIT</i>	8,3
<i>AMP-AMC-CEF-CTX-CAZ-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK-TCY-SXT</i>	8,3
<i>AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK</i>	8,3

Les *Pantoea spp* sont très résistantes aux aminosides, aux quinolones et aux  $\beta$ -lactamines (Figure 6.5). Chacune des souches identifiées présente un profil de résistance différent de ceux des autres (Tableau 6.4).

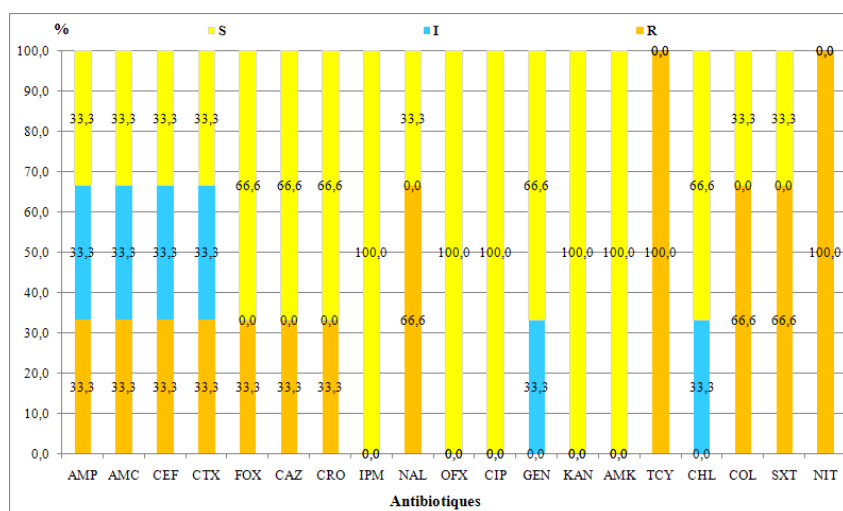


**Figure 6.5:** Sensibilité de *Pantoea* spp. aux différents antibiotiques testés.

**Tableau 6.4:** Profils de résistance identifiés chez *Pantoea* spp. et leur fréquences

Profil	Fréquence %
AMP-NAL-GEN-KAN-AMK	16,7
AMP-NAL-OFX-GEN-KAN-AMK	16,7
AMP-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK	16,7
AMP-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK-TCY	16,7
AMP-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK	16,7
AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK-TCY-SXT	16,7

*Proteus mirabilis* a démontré une résistance élevée aux furanes, aux cyclines, à l'acide nalidixique et un peu moins aux  $\beta$ -lactamines (Figure 6.6).



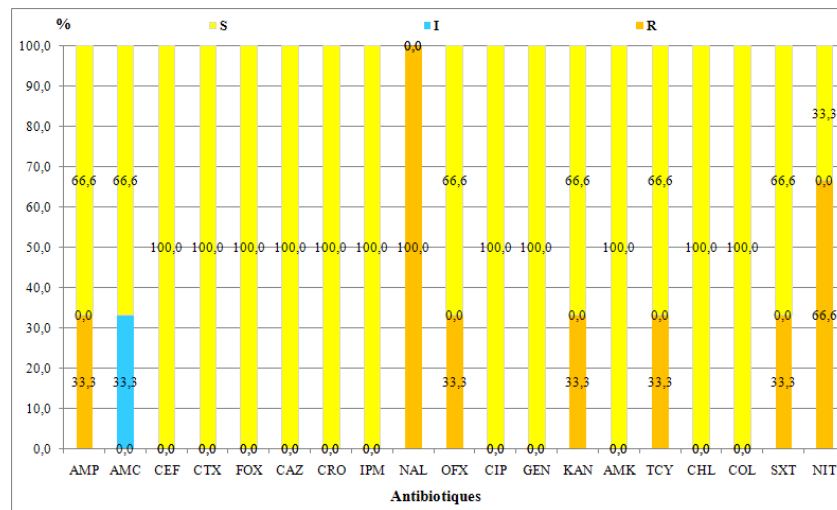
**Figure 6.6:** Sensibilité de *Proteus mirabilis* aux différents antibiotiques testés

Les trois profils de résistance présentés sont : *AMP-AMC-CEF-CTX-TCY-COL-NIT*, *NAL-TCY-CHL-COL-SXT-NIT* et *AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-CRO-NAL-GEN-TCY-SXT-NIT*.

De même, l'unique souche de *Proteus penneri* ayant été identifiée présente le profil de résistance : *AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-NAL-COL*.

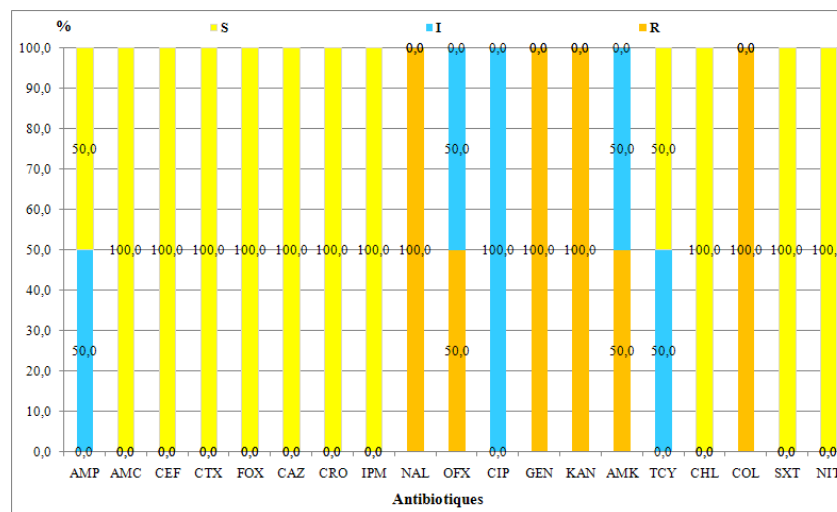
Une résistance totale à l'acide nalidixique a été notée chez les salmonelles isolées dans cette étude. Néanmoins ces bactéries étaient entièrement sensibles aux céphalosporines, au chloramphénicol et à la colistine (Figure 6.7). Trois profils de résistance différents ont été trouvés chez les trois souches : *NAL-OFX-CIP-KAN-TCY-SXT*, *AMP-AMC-NAL-NIT* et *NAL-NIT*.





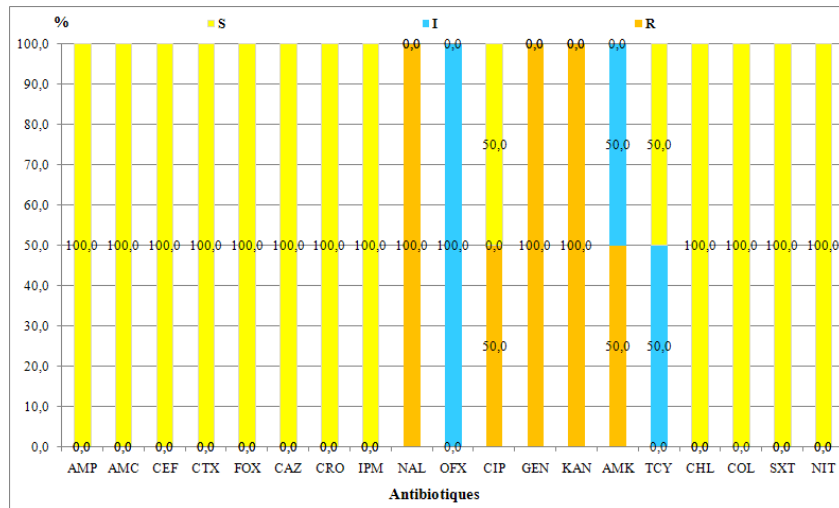
**Figure 6.7:** Sensibilité de *Salmonella spp* aux différents antibiotiques testés.

*Cedecea lapagei* était sensible à toutes les  $\beta$ -lactamines (à part l'ampicilline), aux phénicolés et aux furanes. Cependant elle a démontré une résistance élevée aux quinolones et aux aminosides (Figure 6.8) avec les deux profils suivants : AMP-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK-TCY-COL et AMP-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK-COL



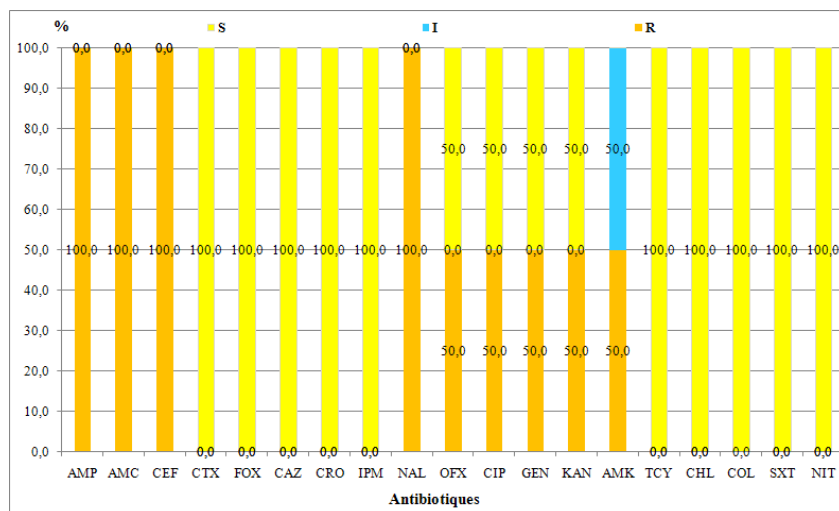
**Figure 6.8 :** Sensibilité de *Cedecea lapagei* aux différents antibiotiques testés

Chez *Escherichia vulneris*, les profils de résistance NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK et NAL-OFX-GEN-KAN-AMK ont été notés. Ainsi les résistances aux quinolones et aux aminosides étaient les plus fréquentes (Figure 6.9).



**Figure 6.9:** Sensibilité d'*E. vulneris* aux différents antibiotiques testés.

Deux profils de résistance étaient identifiés chez les deux souches de *Serratia marsecens* : *AMC-CEF-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK* et *AMC-CEF-NAL-GEN-KAN-AMK* avec une résistance élevée aux quinolones, aux aminosides et aux céphalosporine de première génération (*Figure 6.10*).



**Figure 6.10:** Sensibilité de *Serratia marsecens* aux différents antibiotiques testés

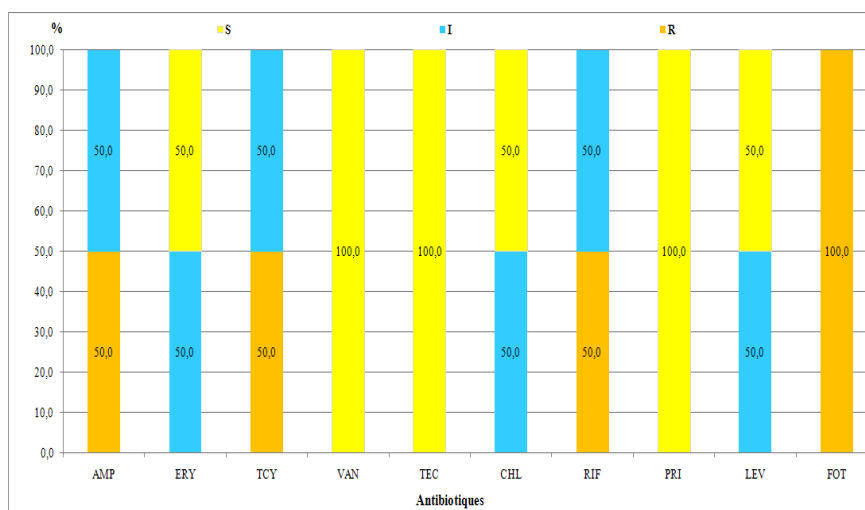
Le seul *Enterobacter cloacae* isolé a le profil de résistance suivant : *AMP-AMC-CEF-CTX-FOX-CAZ-NIT*.

Quant à la seule souche de *Yersinia enterocolitica*, elle a le profil *AMP-AMC-CEF-CTX-NAL-OFX-CIP-GEN-KAN-AMK*.

### 6.2.2.2 Streptocoques

#### A. Groupe *viridans*

Les deux isolats d'*Aerococcus viridans* sont entièrement résistants au Fosfomycine-Trometamol ; mais totalement sensibles à la vancomycine et à la teicoplanine (Figure 6.11) avec les deux profils : *AMP-TCY-RIF-LEV-FOT* et *AMP-ERY-TCY-CHL-RIF-FOT*.

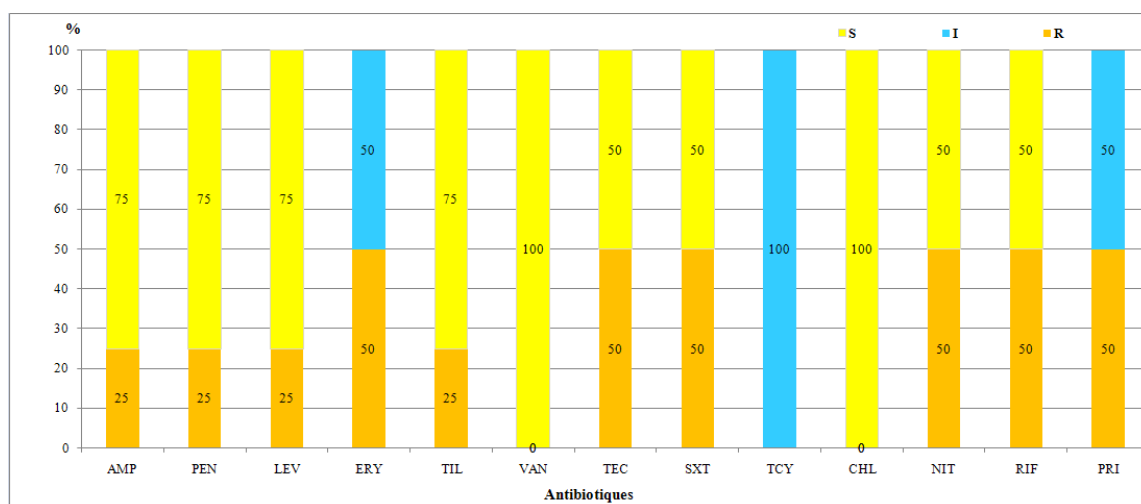


**Figure 6.11** : Sensibilité d'*Aerococcus viridans* aux différents antibiotiques testés

Le seul *Streptococcus uberis* démontrait le profil de résistance : *AMP-ERY-TCY-VAN-TEC -CHL-RIF-PRI-LEV-FOT*.

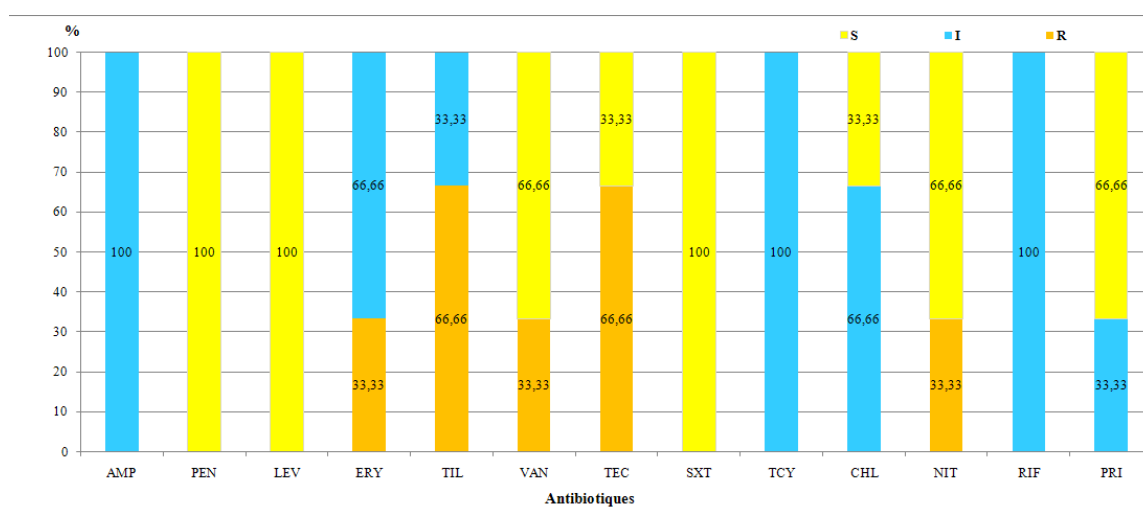
#### B. Enterococcus et Lactococcus

Les souches d'*Enterococcus faecium* identifiées dans cette étude présentent une résistance totale à la tétracycline et un peu moins à d'autres antibiotiques ; mais elles sont totalement sensibles au chloramphénicol et à la vancomycine (Figure 6.12). Leurs profils de résistance sont : *ERY-TEC-TCY-PRI*, *ERY-TCY-RIF-PRI*, *ERY-SXT-TCY-NIT-RIF-PRI* et *AMP-EN-LEV-ERY-TIL-TEC-SXT-TCY-NIT-RIF-PRI*.



**Figure 6.12** : Sensibilité d'*Enterococcus faecium* aux différents antibiotiques testés.

Les niveaux de résistance d'*Enterococcus faecalis* sont représentés dans la (Figure 6.13). Les profils relevés sont : *AMP-ERY-TIL-TEC-TCY-CHL-NIT-RIF*, *AMP-ERY-TIL-TCY-RIF* et *AMP-ERY-TIL-VAN-TEC-TCY-CHL-RIF-PRI*.

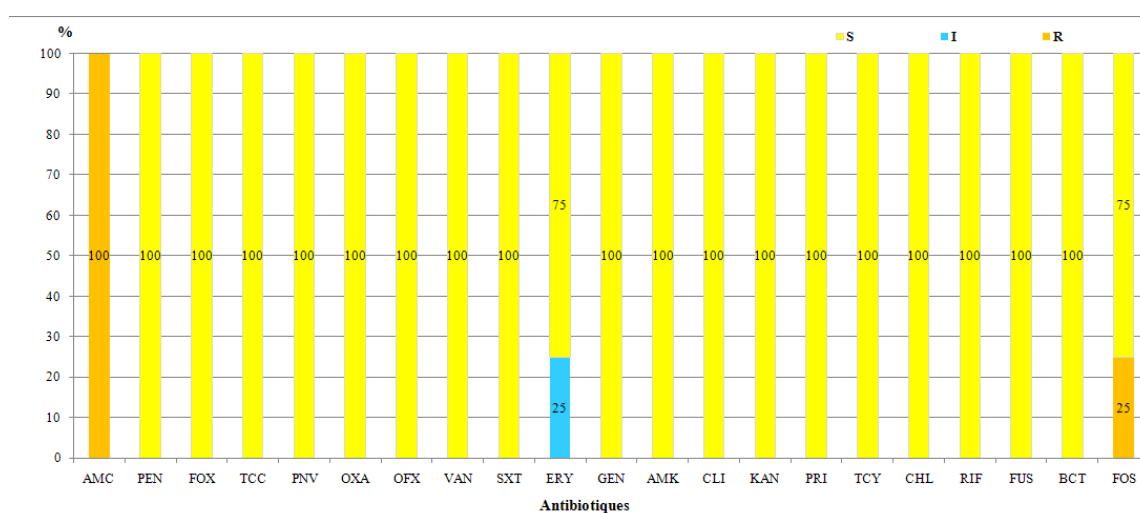


**Figure 6.13** : Sensibilité d'*Enterococcus faecalis* aux différents antibiotiques testés

Les deux isolats de *Lactococcus cremoris* ont démontré les profils de résistance : *AMP-LEV-ERY-VAN-TEC-SXT-TCY-CHL-NIT-RIF-PRI* et *AMP-LEV-ERY-VAN-TCY-CHL-RIF-PRI*.

### 6.2.2.3 Staphylocoques

Tous les staphylocoques identifiés étaient sensibles à la plus part des antibiotiques testés (Figure 6.14). Les profils de résistance rencontrés chez *Staphylococcus aureus* étaient : *PEN* (n=2) et *PEN-ERY* (n=1) et chez la seule souche à coagulase négative, le profil était : *PEN-FOS*.



**Figure 6.14** : Sensibilité de *Staphylococcus spp* aux différents antibiotiques testés

### 6.2.2.4 Les autres bactéries

Chez *Pseudomonas aeruginosa* le seul profil de résistance était : *AMC* alors que chez *Pseudomonas luteola*, il est : *AMC-TCC-ATM-TIO-RIF*.

Les deux souches d'*Acinetobacter spp* ont présenté deux profils différents de résistance : *TCY-CHL* et *TCY-CHL-SXT*.

*Pasteurella pneumotropica* identifiées avec deux profils de résistance : *AMX-AMP-CRO-TCY-CHL-SXT* (n=1) et *CHL-SXT* (n=1).

L'unique *Listeria spp* isolée d'un seul poussin a montré le profil : *AMX-PEN-NAL-ERY-TCY-SXT*.

Finalement , il est très important de signaler que certains de ces profils sont partagés entre des souches isolées de poussins collectés de différents élevages et de même des souches isolées de poussins issus d'un même élevage ont présenté différents profils de

résistance. Certains profils sont aussi communs à certaines souches isolées des œufs à couver et des poussins morts d'omphalites.

### 6.3. Discussion

#### 6.3.1. Bactéries isolées d'omphalites

Les Omphalites sont la première cause de mortalité chez les poussins pendant leur première semaine de vie. Elles sont caractérisées par l'inflammation de l'ombilic qui demeure non cicatrisé et accompagnée toujours par l'inflammation du sac vitellin qui est la seule source de nutriments pour les très jeunes oiseaux.

De part le monde, plusieurs études se sont intéressées à cette entité pathologique afin de déceler les facteurs favorisant sa survenance et surtout les germes qui en sont la cause.

Dans notre travail, plusieurs espèces bactériennes ont été isolées chez les 114 poussins ayant succombé aux suites de l'infection de leurs ombilics. Les Gram- et surtout les entérobactéries représentent de loin l'étiologie majeure en étant responsables de 79.82% des cas avec une nette prédominance d'*E. coli* dont le taux d'identification se lève à 50.88%.

Les Gram+ sont, quant à eux, représentés essentiellement par les streptocoques et les entérocoques suivis par les *staphylocoques* qui sont responsables respectivement de 6.14% et 3.50% des cas. D'autres bactéries ont pu également être identifiées, mais dans très peu de cas, il s'agit essentiellement de *Pseudomonas spp* (1.75%), *Acinetobacter spp* (1.75%), *Pasteurella spp* (1.75%) et *Listéria spp* (0.88%).

Ces résultats sont en parfait accord avec ceux décrits par Cortes *et al.* (2004) [64], Iqbal *et al.* (2006) [65] et Abadi (2013) [67].

### 6.3.1.1 Les entérobactéries

#### A. *Escherichia coli* et *Escherichia vulneris*

*E. coli* est une bactérie commensale du tube digestif des humains et des animaux y compris les oiseaux. Néanmoins, certaines souches possèdent des facteurs de virulence leurs permettant de provoquer des maladies [112].

Dans leurs études, Cortes et al. (2004) [64], Iqbal et al. (2006) [65] et Abadi (2013) [67] décrivent cette bactérie comme étant la principale cause des omphalites chez les poussins avec des taux d'isolement de 45.5%, 51.2% et 47.93% respectivement. Ces résultats se rapprochent beaucoup à 50.88% ceux de notre travail.

En aviculture, cette bactérie peut persister pour de longues périodes dans le milieu extérieur surtout sec (poulaillers et, leurs environnement) (80 à 120 par fois 191 jours) [113].

Par ailleurs, plusieurs auteurs ont décrit la contamination des œufs fertiles au niveau des nids comme cause majeure des infections du sac vitellin, bien qu'elle puisse survenir au cours de leur transport au couvoir et même à son niveau. La présence de cette bactérie sur les coquilles des œufs en incubation est la cause de 15 à 20% de mortalité embryonnaire, 10 à 20% de mortinatalité, 3 à 5% parfois 42% de mortalité en coquille et 25% de mortalité pendant la première semaine de vie des poussin suite aux infections de la vésicule vitelline par *E. coli* [64, 113,114].

Selon Saif et al. (2008) [23], il paraît très logique d'isoler peu d'*E. coli* à partir du sac vitellin sain. Par contre, lors d'omphalites, les populations de cette bactérie prolifèrent dans le contenu du sac vitellin qui contient tous les éléments nutritifs dont elles ont besoin.

Pendant plusieurs années, on n'a cru que les isolats d'*E. coli* des cas d'omphalites étaient avirulents ou de virulence basse ; mais des études génotypiques ont prouvé la grande ressemblance entre ces souches et les APEC (Avian pathogenic *E. coli*) [116].

Chez les oiseaux, les APEC sont à l'origine de beaucoup de maladies telles que : l'infection du sac vitellin et les omphalites, les aérosacculites, la périhépatite, les entérites, la coligranulomatose et le syndrome de la tête gonflé [117].

APEC est l'un des sous groupes d'*E. Coli* appelés EXPEC (extra-intestinal pathogenic *E. coli*). Ce groupe comporte les souches qui ont acquis les capacités de franchir les barrières immunitaires de leur hôte pour se disséminer dans tout l'organisme. Chez l'homme, elles sont le plus souvent la cause d'infections du tractus urinaire (UPEC), de méningites néonatales (NMEC) et d'invasion/colonisation de l'organisme (septis, choc septique) [118]. Plusieurs études ont démontré que les APEC et les UPEC appartiennent aux mêmes clones, ce qui laisse supposer une potentielle origine aviaire des souches causant les infections urinaires chez l'humain [119;120].

Il est intéressant de signaler que les souches isolées d'omphalites pourraient ne pas être des APEC ; mais simplement des souches commensales ayant acquis des gènes de virulence (îlots de pathogénicité : Pathogenicity Associated Islands PAI) par transfert génétique horizontal (portés par des plasmides en même temps que des gènes de résistance aux antibiotiques, par des transposons ou des phages) [121]. Récemment une clonalité a été trouvée entre des souches aviaires commensales et les souches humaines hospitalières [122]. En outre, il est préoccupant que les isolats d'APEC sont de plus en plus résistants aux agents antimicrobiens.

*E. vulneris* est l'une des entérobactéries les plus importantes en pathologie humaine. Récemment, elle a été identifiée pour être la cause de bactériémies [123], d'ostéomyélite [124], d'infection urinaire [125], et de méningite [126].

Chez l'animal, *E. vulneris* a été isolée à partir de l'intestin de lapin et des oiseaux [127]. Cette bactérie a été aussi cultivée à partir d'échantillons d'eau potable [128].

Dans notre étude, ce microorganisme est la cause de 1.75% des omphalites. Les poussins pourraient s'infecter au couvoir (œufs souillés) ou lors de la mise en place dans les élevages (litière et matériel souillés), en raison de la présence de ce germe dans le contenu intestinal et les fientes des oiseaux [127]. Une autre source possible de l'infection est l'eau, puisque cette bactérie a pu être cultivée d'échantillons d'eau potable [128].

*En élevage et surtout au couvoir le personnel constitue une source redoutable de ce germe colonisateur des plaies et des blessures [129].*



*B. Klebsiella spp*

Les bactéries du genre *Klebsiella* sont largement répandues dans la nature, à la fois dans le sol et dans l'eau, en particulier les régions tropicales et subtropicales. *Klebsiella pneumoniae* est la seule espèce pathogène associée à plusieurs processus pathologiques aussi bien chez l'homme que chez les animaux [130].

Chez la volaille, *Klebsiella pneumoniae* est un contaminant environnemental, occasionnellement responsable de mortalités embryonnaires, d'infections du sac vitellin chez le poulet, la dinde et l'autruche. Elle est aussi associée à des infections cutanées, respiratoires, oculaires et systémiques chez le poulet. Cependant, elle est rarement à l'origine d'infections des organes génitaux (salpingites et ovarites) chez le poulet [23]. Des taux de mortalité très élevés ont été enregistrés chez des poussins inoculés expérimentalement avec cette bactérie, qui peut être isolée même des carcasses après abattage [130].

Chez l'homme, *Klebsiella pneumoniae* est responsable d'infections (pneumopathies, septicémie, otite externe...) surtout nosocomiales avec une prédilection pour le tractus urinaire [131].

Davis et al. (2015) [132], en voulant comprendre les contributions potentielles de *Klebsiella pneumoniae* d'origine animale dans les infections humaines, ont montré une parenté génétique entre des isolats d'origine multiples (animale y compris aviaires, alimentaire et humaine), couplée avec des similitudes dans la virulence et la résistance aux antibiotiques. Ce qui prouve la transmission de cette bactérie entre ces différentes sources.

En absence de désinfection rigoureuse, cette bactérie présente à la surface des œufs à couver persiste pendant l'incubation et jusqu'à l'éclosion et peut ainsi contaminer les poussins lors du bêcheage ou souiller l'ombilic [64].

Dans notre travail, *Klebsiella pneumoniae* a été isolée dans 10.53% des cas d'omphalites. Nos résultats sont en accord avec ceux de Cortes et al. (2004) [64] et Al-Husseina et al. (2008)[68] (9.5% et 12% respectivement); mais trop élevés par rapports au 1.79% obtenus par Iqbal et al. (2006) [65].

### C. *Pantoea spp*

*Pantoea* est un genre de *protéobactéries* de la famille *entérobacteriaceae* qui comprend des espèces phytopathogènes pouvant aussi infecter l'homme. Ce genre comprend vingt-deux espèces et deux sous espèces, l'espèce type est *Pantoea agglomerens*.

Chez la volaille, *Pantoea spp* est un habitant habituel du tractus digestif. Comme toutes les entérobactéries, elle peut infecter les œufs et les jeunes oiseaux entraînant des mortalités embryonnaires, des omphalites et des infections du sac vitellin, ainsi que des mortalités chez les jeunes oiseaux. Elle a été isolée aussi de cas de cellulites chez la dinde [23].

Chez l'homme, *Pantoea agglomerans* est l'espèce la plus fréquemment associée aux infections (pneumonie, infections des plaies, septicémie, infections des voies urinaires, méningites, abcès du poumon et du cerveau, ostéomyélites, arthrites, péritonite et colélithiases) [133].

Dans notre étude *Pantoea spp* à été isolé des cas d'omphalite avec une proportion de 5.26%.

### D. *Enterobacter*

Le genre *Enterobacter* appartient à la famille des *entérobactéries*, son habitat est l'intestin de l'homme et celui de l'animal, *Enterobacter* est aussi trouvé dans les selles, les eaux, d'égout et le sol. L'espèce la plus citée est *Enterobacter cloacae* commensale du tube digestif de l'homme et capable de passer à l'état pathogène opportuniste surtout en services de soins intensifs [134].

Chez l'animal en particulier la volaille c'est un habitant habituel du tractus digestif, mais peut devenir pathogène infectant les œufs et les poussins causant des mortalités embryonnaires, des omphalites, des inflammations du sac vitellin et des mortalités des poussins [64].

Au cours de notre étude *Enterobacter cloacae* à été isolé en faible proportion causant 0.88% de cas d'omphalite. D'autres auteurs ont isolé une autre espèce : *Enterobacter aerogenes* avec des proportions variant entre 9.5% et 16.2% [64, 68].

#### E. *Proteus spp*

*Proteus* est une entérobactérie commensale du tube digestif de l'animal et de l'homme. Couramment rencontré dans le sol et les eaux polluées. Le genre *Proteus* comporte quatre espèces (*Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri* et *Proteus hanseri*) et c'est un pathogène opportuniste qui provoque une variété d'infections chez les animaux comme chez l'homme [135].

Suite à la contamination des œufs par les fientes, les bactéries de ce genre sont capables de franchir leurs coquilles, en provoquant occasionnellement des mortalités embryonnaires, des inflammations du sac vitellin, des mortalités et des mortalités chez les jeunes oiseaux. Des cas de salpingites et d'ovarites ont été enregistrés chez la poule pondeuse et la reproductrice avec de possibles atteintes des poumons, de la trachée, et des reins [23, 136].

Chez l'homme, *Proteus mirabilis* est le plus fréquemment rencontré dans 70% à 90% des infections surtout du tractus urinaire. Il provoque aussi des otites, des infections des blessures, des prostatites, de maladies nosocomiales et des entérites néonatales [135, 137].

Dans notre travail, on a isolé *Proteus mirabilis* dans 2.63% des cas d'omphalite, ce qui est moins important que les résultats obtenus par Al-Husseina (2008) [68] et Iqbal (2006) [65] (4.2% et 5.87% dans l'ordre).

La deuxième espèce identifiée dans notre étude est *Proteus penneri* avec une proportion faible de 0.88%. Elle n'a pas été décrite chez les animaux (les oiseaux inclus) dans la littérature ; néanmoins elle est incriminée dans beaucoup de pathologies humaines comme les infections nosocomiales, les infections urinaires, les infections des plaies ouvertes et les diarrhées [138].

#### F. *Salmonella spp*

*Salmonella spp* est une entérobactérie pathogène intestinale des animaux et de l'homme. Elle demeure l'une des bactéries pathogènes zoonotiques les plus importantes [23].

Chez la volaille, les infections salmonelliques aiguës ou chroniques sont classées en trois catégories de maladies. La première concerne le sérotype *S. pullorum* et *S. gallinarum*. *S. pullorum* provoque une maladie asymptomatique chez les adultes avec une infection des ovaires ou parfois une septicémie.

Elle est transmise aux poussins verticalement en provoquant chez eux une diarrhée fatale dans les quatre premiers jours de leur vie. Par contre *S. gallinarum* est à l'origine d'une maladie aiguë ou chronique touchant le plus souvent les sujets adultes.

La deuxième catégorie est la paratyphoïde qui est asymptomatique chez les oiseaux adultes. Les sérotypes qui en sont responsables peuvent infecter les œufs à couver et entraîner des mortalités chez les jeunes poussins. Ces serotypes constituent une réelle préoccupation en santé publique (toxi-infections alimentaires).

La troisième catégorie est due à *Salmonella enterica* sous espèce *arizona* dont l'hôte le plus infecté est la dinde. *S. arizonae* est maintenue chez cet animal par la souillure des œufs à couver avec des fientes [23].

En pathologies humaine, les salmonelloses comprennent deux principaux types d'affections : les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes et les gastroentérites. Les premières résultent de l'ingestion d'eau ou d'aliments ayant subi une contamination fécale d'origine humaine et les secondes sont les salmonelloses zoonotiques transmissibles de l'animal à l'homme.

La contamination de l'homme par les volailles peut survenir tant par contact direct entre l'homme et l'animal que par contact indirect via la consommation de viande de volaille contaminée et insuffisamment cuite et à partir d'œufs contaminés consommés crus. Les trois principaux sérotypes concernés ici sont *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* et *S. Paratyphi B var. Java*.

Les élevages de volailles infectés sont parmi les réservoirs les plus importants de *salmonelles* qui peuvent être transmises aux humains par le biais de la chaîne alimentaire [23].

Aux couvoirs se sont surtout les coquilles des œufs à couver qui sont la source majeure de ces bactéries suivies par les bandes transporteuses des poussins et les plateaux d'éclosion et de collecte du méconium des poussins nouvellement éclos [139].

La présence de cette bactérie se traduit à partir du 6<sup>e</sup> jour, mais surtout après le 15<sup>e</sup> jour d'incubation par des mortalités embryonnaires et des troubles de l'éclosion [114].

Selon Cason et al. (1994) [140], l'éclosion même d'un petit nombre d'œufs contaminés par *S. Typhimurium* engendre la contamination de toute la salle d'éclosion surtout l'air. Ces bactéries peuvent alors persister pendant 4 à 5 ans dans le duvet [141].

Les poussins ayant échappé à la mort au niveau des couvoirs, peuvent succomber en élevage autour des 4<sup>e</sup>-5<sup>e</sup> jours et vers le 15<sup>e</sup> jour. Le lot restant présente une très forte hétérogénéité (en raison de la réduction de l'efficacité alimentaire et à la diminution du gain de poids) avec des taux de mortalité / élimination variant de 10 à 20% [114,142].

Dans notre travail, même si le taux d'isolement de ces bactéries est de 2.63%, il reste comme même alarmant à cause du danger qu'elles représentent pour la santé humaine. Ce taux est supérieur au 0.5% rapporté par Iqbal et al. (2006) [65], mais de loin très inférieur au 68% décrit par *Nasrin et al (2012) [66]*.

#### *G. Serratia marcescens*

*Serratia marcescens* est un membre de la famille entérobacteriaceae occupant divers habitats (principalement de l'eau, les plantes, le sol et les aliments riches en amidon) [143,144].

Ce microorganisme est considéré comme un redoutable pathogène chez l'homme et un peu moins chez l'animal. Il a été rarement cité dans la littérature décrivant la pathologie des volailles, chez qui il provoque parfois des septicémies [135].

Chez l'homme, cet agent pathogène opportuniste est capable de provoquer un large éventail de maladies, y compris les infections des plaies et des voies urinaires, les pneumonies, les méningites et les septicémies. *Serratia marcescens* est une cause rare des infections acquises communautaires ; mais elle est apparue depuis quelques années comme un important pathogène nosocomial [143].

Dans l'étude actuelle *S. marcescens* est responsable de 1.75% des cas d'omphalites, bien qu'aucune référence bibliographique ne le décrive chez les poussins. L'éventualité qui peut se poser est la contamination des poussins aux couvoirs ou en élevages par

l'intermédiaire du personnel qui pourrait être porteur de *S. marcescens* dans leurs plaies infectées [145].

#### H. *Cedecea lapagei*

*Cedecea* représente un genre de la famille des entérobactéries dont les souches semblent être similaires à celles de *Serratia*.

Ces bactéries ont rarement été isolées de l'environnement ou des tissus vivants et leur implication dans les infections humaines n'a pas encore été bien élucidée [146]. *Cedecea lapagei* a été identifiée dans des cas de pneumonies, des infections des plaies et des infections urinaires [147, 148, 149].

Cet agent n'a pas été cité en aucun cas dans les infections animales, néanmoins il est responsable de 1.75% de cas d'omphalite dans notre étude.

#### I. *Yersinia enterocolitica*

*Yersinia enterocolitica* est une espèce enteropathogène largement distribué dans la nature et affecte les humains et les animaux [150].

C'est un agent zoonotique et la 3<sup>e</sup> cause bactérienne des entérites chez l'homme, qui s'infecte suite à l'ingestion d'aliments contaminés surtout la viande de volaille [151].

Chez les animaux le porc est le réservoir principal et la volaille contracte le germe par l'ingestion d'aliment et d'eau contaminés.

Dans notre étude *Yersinia enterocolitica* a été isolé avec une faible proportion (0.88%) très proche de celle rapportée par (Iqbal et al ; 2006)[65] : 0.5%.

#### 6.3.1.2 *Pseudomonas spp*

*Pseudomonas* est un pathogène opportuniste omniprésent dans l'eau, le sol et les matières organiques. Il regroupe plusieurs espèces dont le plus important en pathologie humaine et animale est *Pseudomonas aeruginosa*.

Chez l'homme, *Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène opportuniste, souvent incriminé dans les infections nosocomiales et de grande variété de complications cliniques y compris les brûlures et infection de la plaie, la pneumonie, troubles pulmonaires chroniques, la septicémie, otite externe, et infection du tractus urinaire [131].

Parmi les autres espèces de ce genre et qui a fait partie de nos isolats d'omphalite c'est le *Pseudomonas luteola*, Cette espèce (renommé *Chryseomonas luteola*) est omniprésente dans le sol ; mais rarement rapportée comme un pathogène chez les humains et les animaux. Décrite chez les patients immunodéprimés ou avec des troubles médicaux sous-jacents, responsable de septicémie, des péritonites et des endocardites [152].

Chez la volaille, *Pseudomona aeruginosa* peut entraîner des maladies localisées ou systémiques chez les poussins et les adultes. Au couvoir, elle est capable d'envahir les œufs à couver et coloniser les embryons en entraînant leur mort et celle des poussins nouvellement éclos. Son pouvoir d'invasion des œufs à couver est relaté à sa capacité de dégradation des protéines du vitellus rendant ainsi le milieu favorable à la pullulation et l'installation des autres germes pathogènes [64,153]. L'explosion des œufs à couver infectés par ce germe peut engendrer une infection par voie aérienne des poussins éclos [136].

Par ailleurs, il est responsable aussi d'infections respiratoires, de sinusites, de kératites et de Kérato-conjonctivites [23].

Dans notre étude on a pu isoler *Pseudomonas aeruginosa* dans 0.88%, ce qui est très proche aux taux observés par Iqbal et al (2006) [65] et Walker *et al.* (2002) [153].

On a pu aussi identifier *Pseudomonas luteola* chez 0.88% des poussins morts d'omphalites, ses descriptions sont rares en médecine vétérinaire surtout chez les oiseaux.

Ce microorganisme a été cultivé à partir de truite arc avec septicémie et des furets atteints de pneumonies. Il a été décrit comme faisant partie de la microflore intestinale de poisson zèbre [154].

D'autres espèces de *Pseudomonas* ont aussi été isolées de cas d'omphalite chez le poussin. Il s'agit principalement de *P. fluorescens* [64].

### 6.3.1.3 *Acinetobacter spp*

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont des bacilles ou coccobacilles à Gram-, aérobies stricts, ubiquitaires et peuvent être isolées à partir du sol et des eaux [155].

Elles font aussi partie de la flore cutanée de l'homme, de la salive et du tractus respiratoire [156].

Chez l'homme, *Acinetobacter baumannii* est une espèce émergente comme un important agent pathogène opportuniste multi-résistant aux antibiotiques, associé aux infections nosocomiales (pneumonies, méningites, infections urinaires, septicémies et infection des plaies) associées aux séjours dans l'unité de soins intensifs et des hospitalisations prolongées [157,158].

Chez les animaux, il a été récemment documenté. Ce pathogène a le plus souvent été isolé de cathéters vasculaires chez les chevaux [159], ainsi que chez les animaux de compagnie en service de réanimation [160] et des plaies chirurgicales infectées [161].

Cependant, quelques publications confirment la forte prévalence de ce germe chez les animaux en dehors du contexte de l'acquisition nosocomiale et de l'hospitalisation [162, 163]. À titre d'exemple, chez la volaille, le genre *Acinetobacter* a été occasionnellement isolé à partir d'embryons morts en coquille et des poussins faibles [23].

Les résultats de notre étude montrent que 1.75% des cas d'omphalites sont relatés à *A. baumannii*. Ceci étaye les résultats obtenus dans l'étude de Pailhoriès et al. (2015) : la forte présence d'*A.baumannii* en dehors du milieu hospitalier.

### 6.3.1.4 *Staphylococcus spp*

Les staphylocoques sont ubiquitaires et considérés comme la flore normale de la peau et des muqueuses de l'animal et de l'homme ; mais certains peuvent agir comme des agents pathogènes opportunistes et peuvent causer une grande variété d'infection [164]. Ils peuvent être divisés en coagulase positive et coagulase négative en se basant sur la capacité à coaguler le plasma du lapin [165].

La principale espèce qui possède une importance médicale chez l'animal et l'homme *Staphylococcus aureus*.



En pathologie humaine, cette bactérie est responsable le plus souvent d'infections cutané-muqueuses bénignes (folliculites, impétigo, furoncles, abcès, panaris, cellulites), de sinusites et d'otites. Cependant, d'autres infections plus graves et parfois fatales peuvent aussi être causées par ce germe, telles que les pneumonies nécrosantes, les septicémies, les endocardites, certaines méningites, le syndrome de Waterhouse-Friderichsen et rarement une fasciite nécrosante chez les immunodéprimés. Ces infections surviennent généralement lorsque ce germe pénètre réellement dans l'organisme à travers la peau. Des cas de gastro-entérite peuvent aussi résulter d'intoxications alimentaires liées à l'ingestion d'aliments où les bactéries se sont multipliées et ont libéré leurs entérotoxines [131, 166].

En médecine vétérinaire, les infections dues à cette bactérie sont multiples et complexes en relation avec la diversité des espèces touchées et la complexité des facteurs intervenant dans leurs épidémiologies. Chez la volaille en particulier, les staphylocoques sont responsables d'ostéomyélite, de septicémie, d'infection de la peau, d'omphalites, d'inflammation de la vésicule vitelline et du foie chez les poussins en plus des mortalités embryonnaires en coquille [167]. Les oiseaux infectés par *Staphylococcus aureus* semblent être faibles, avec une diarrhée aigue et un ombilic ouvert non cicatrisé [168].

Pendant ces dernières décennies *Staphylococcus aureus* a été décrit comme un important agent zoonotique.

Selon certaines études, les *Staphylocoques* occupent le second rang après les *E. coli*. En étant responsables de 12.6%, 20%, 28% et 23.5% des cas d'omphalites [66, 67, 68, 169] ; Cependant, d'autres travaux montrent une faible prévalence (0.2% à 0.5%) de cette bactérie dans les infections du nombril [64, 65]. Ces résultats sont un peu similaires aux nôtres avec 2.63% pour *Staphylococcus aureus* et 0.88% pour *Staphylococcus coagulase négative*.

#### 6.3.1.5 *Pasteurella spp*

La majorité des espèces du genre *Pasteurella* sont commensales du tractus respiratoire supérieur, gastro-intestinal, urinaire et génital chez les animaux sauvages et domestiques [170]. Ces bactéries peuvent occasionnellement produire des troubles cliniques surtout chez les sujets immuno-déficients [171].

Les pasteurelloses sont avant tous des infections animales apparentes ou latentes, transmises accidentellement à l'homme. L'espèce la plus habituellement incriminée est *Pasteurella multocida*. Les autres ont été exceptionnellement trouvées au cours d'infections humaines. Parmi elles, *Pasteurella pneumotropica* dont les descriptions en infectiologie humaines sont rares faisant suite à des morsures ou des griffades (chien ou chat) [172], avec cellulite et abcès sous-cutanés. Le deuxième site le plus fréquent de l'infection ou de la colonisation est le tractus respiratoire.

Chez la volaille, les pasteurelloses les plus observées sont dues à *P. gallinarum*. Ce commensal du tractus respiratoire supérieur des oiseaux, peut occasionnellement causer des infections respiratoires [170]. *P. multocida* est responsable de choléra aviaire. Les rongeurs et les chats sont souvent identifiés comme porteurs / vecteurs de cette bactérie [173].

Dans notre étude, *P. pneumotropica* est responsable de 1.75% des cas d'omphalite chez les poussins. Cette prévalence faible est presque similaire à celle (0.5%) d'Iqbal (2006) [65].

Cette infection peut avoir comme origine les rongeurs qui sont des vecteurs mécaniques et biologiques. En effet, les mêmes sérotypes de *P. multocida* sont isolés chez les rats et la volaille, ce qui laisse supposer une possible infection résiduelle permettant la transmission aux lots de volailles subséquents [174].

#### 6.3.1.6 Les streptocoques

La famille des *Streptococaceae* est un ensemble de microorganismes hétérogènes comptant les genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Gemella*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Lactococcus* et englobe plus de quatre-vingt espèces et sous espèce.

De nombreuses espèces du genre *Streptococcus* et *Enterococcus* sont impliquées en pathologie humaine et animale, alors que les cinq autres genres des streptococaceae n'interviennent pratiquement pas en pathologie infectieuse, sauf les quelques rares cas d'infection par des bactéries du genre *Aerococcus*. [131].

### A. Streptococcus spp

Les principales pathologies à streptocoques chez l'homme sont : les infections des voies respiratoires, les septicémies néonatales et les infections des voies urogénitales [131].

Et chez la volaille l'espèce qui s'avère très pathogène est *Streptococcus zooepidemicus* en particulier chez les sujets adultes entraînant une septicémie [23].

Dans notre étude l'espèce isolée du genre *Streptococcus* est *Streptococcus uberis*. C'est une bactérie commensale retrouvée dans les amygdales, le tube digestif et les muqueuses chez les bovins et/est elle est responsable d'un pourcentage élevée de mammite ; la contamination est favorisée par les mauvaises conditions hygiéniques environnementales (contamination fécale) [175].

Une autre espèce, *S. parauberis* très proche de *S. uberis* est également responsable de mammite et a été isolée de la viande de volaille [176].

Dans notre étude *S. uberis* à été à l'origine de 0.88% d'omphalites. Ceci laisse supposer la contamination des œufs et/ou des poussins (au couvoir ou en élevage) par ce germe très répandu dans la bouse des vaches.

Des études antérieures ont montré que les streptocoques sont parmi les bactéries incriminées dans les infections ombilicales et les mortalités des poussins pendant la première semaine de leur vie. [64, 67, 68].

### B. Enterococcus spp

Un autre genre de la famille des streptococaceae et qui est responsable de pathologies, c'est le genre *Enterococcus*.

Les entérocoques sont des commensaux normaux du tractus intestinal animal et humain (constitue 10% de la flore aérobie de l'intestin) et peuvent causer divers types d'infections chez l'homme y compris la bactériémie primaire, l'endocardite, les méningites et les infections des voies urinaires.

Les deux principales espèces sont *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*.

Au cours des deux dernières décennies, les enterocoques ont obtenu une importance médicale croissante comme des agents pathogènes nosocomiaux en particulier chez les patients en unités de soins intensifs [117].

Chez la volaille, *E. faecalis* peut engendrer des infections à toute âge, des mortalités embryonnaires en coquille [178], des omphalites [64, 65, 67, 68, 179] et de non résorption de la vésicule vitelline [180]. *E. faecium* a été identifié comme cause de mortalité des canetons [181].

Selon une étude réalisée par *Terregino et al (2000)*[182], les *Enterococcus spp* sont la deuxième cause de mortalité des poussins pendant la première semaine de vie, après *E. coli*.

Les *Enterococcus* ont été isolés aussi dans les cas de nécrose de cerveau, l'encéphalomalacie chez les jeunes oiseaux. Chez les sujets adultes *E. faecalis* a été identifiée dans le cas d'endocardite et l'arthropathie amyloïde [23, 183].

Notre étude confirme ainsi le rôle des entérocoques dans les infections de l'ombilic chez le jeune poussin, puisque la prévalence d'*E. faecalis* est de 2,63% et celle d'*E. faecium* est de 3.51% des cas.

#### C. *Lactococcus spp*

Ces bactéries sont très répandues dans l'environnement [184]. Certaines pourraient faire partie intégrante de la flore normale humaine et être occasionnellement présentes dans l'oropharynx, le tube digestif, ou le vagin [185]. *Lactococcus lactis cremosis* est connu comme commensal de la peau des bovins [186]. Néanmoins, un pouvoir pathogène semble émerger et plusieurs publications ont, en effet rapporté des cas d'infection chez l'homme et l'animal [187].

*Lactococcus lactis cremosis* a été isolé dans des infections plus ou moins sévères : pneumopathie, gastroentérites, abcès hépatique, abcès cérébelleux, péritonite, abcès maxillofacial, pleurésie purulente, Canaliculite, ces infections surviennent généralement sur un terrain fragilisé [188].

Les premiers cas d'infections à *Lactococcus lactis lactis* n'ont été décrits que récemment chez les oiseaux d'eau entraînant une asthénie, une perte de la mobilité et une détresse respiratoire dans 50% des cas [187].

Quant à *L. lactis cremosis*, il n'a pas été cité dans la littérature comme cause d'infection chez les animaux.

En revanche, dans notre étude *L. lactis cremosis* a été responsable de 1.75% de cas d'omphalites chez les poussins.

#### D. *Aerococcus spp*

Le genre *Aerococcus* initialement décrit comme un genre qui comprend une seule espèce *A. viridans* ; après, cinq nouvelles espèces ont été identifiées [189].

Généralement non groupable, ce sont des commensaux fréquents de l'oropharynx, de la peau et des voies génitales féminines [170].

L'espèce *Aerococcus viridans* a été identifiée dans différentes infections opportunistes animales et humaines. Chez l'homme cette bactérie a été associée à l'endocardite, aux infections des voies urinaires, aux arthrites, aux méningites et aux infections de la peau [189, 190].

*Turtura et Lorenzelli (1994)* [191] ont démontré la présence d'*A. viridans* dans la viande de volaille.

Dans notre étude *A. viridans* a été responsable d'omphalite chez les poussins avec une prévalence de 1.75%.

Il est à signaler que plusieurs *streptococci* isolés chez la volaille sont considérés comme des agents zoonotiques [192].

#### 6.3.1.7 *Listeria spp*

*Listeria* est une bactérie omniprésente, largement distribuée dans l'environnement (le sol et, les eaux usées surtout) [193]. Le genre *Listeria* comprend six espèces, parmi lesquelles seules *L. monocytogenes* et *L. ivanovii* sont pathogènes. La première a été

connue depuis de nombreuses années comme une bactérie pathogène facultative qui provoque une maladie grave chez l'homme et les animaux, causant des septicémies, des avortements et des infections du système nerveux central [131].

Chez la volaille, les infections causées par *L. monocytogenes* se manifestent sporadiquement [23]. Deux formes sont connues : la forme septicémique caractérisée par la diarrhée et l'émaciation, et la forme encéphalique caractérisée par des troubles neurologiques (ataxie, torticolis et opistotonos) [194]. On observe aussi des salpingites chez la poule après la phase aigüe de l'infection. La contamination peut survenir par inhalation, ingestion ou contamination de plaie [195]. Les embryons en coquille sont facilement infectés. La bactérie a été isolée à partir de la litière humide, l'eau et le sol [23].

Dans notre étude, *Listeria spp* à été isolé avec une prévalence de 0.88% des cas d'omphalites. Hussu et al. (1990) [197], ont étudié le sort de *L. monocytogenes* administrée par voie orale chez des poussins de deux jours d'âge et ont montré la présence de la bactérie dans le tractus digestif en particulier au niveau de l'intestin ; sachant la forte liaison anatomique entre l'intestin et la vésicule vitelline ce qui laisse supposer, le passage de *Listéria spp* de l'intestin vers la vésicule vitelline qui est le premier point de nutrition des poussins pendant les premiers jours de vie ; entraînant ainsi leur mort.

Selon Cox et al. (1997) [198], *L. monocytogenes* à été isolée dans des couvoirs ce qui suppose une autre origine de contamination des poussins.

#### 6.3.1.8. *Clostridium spp*

Selon Davis 2012 [285], l'espèce *Clostridium perfringers* fait partie également des bactéries responsables d'omphalite chez le poussin. Dans notre étude ces bactéries n'ont pas fait l'objet d'une recherche.

En fin, il est à signaler qu'*Ochrobactrum spp*, est un genre de bactérie faisant partie de la famille des brucellaceae. C'est une bactérie opportuniste qui peut être trouvée dans le sol et l'eau ainsi que les plantes, chez les animaux malades ou en bonne santé [199, 200] et chez l'homme [201].

Chez la volaille, *Ochrobactrum gallinifaecis* a été isolée à partir de matières fécales de poulets [199]. L'espèce *O. anthropi*, a été isolé à partir de prélèvements caeaux de

dindes [202], cette espèce n'a pas été décrite dans la littérature comme pathogène chez la volaille.

### 6.3.2 Resistance aux antibiotiques

Les antibiotiques sont utilisés de quatre façons différentes chez les animaux de production (en fonction des objectifs visés):

- En thérapeutique afin d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité ;
- En métaphylaxie pour éviter la propagation de la maladie dans l'élevage en traitant les animaux soumis à la pression infectieuse (qu'ils soient sains ou en incubation) en même temps que les malades ;
- En prophylaxie pour éviter totalement l'expression clinique de la maladie chez des animaux soumis à une pression de contamination régulière et bien connue ;

D'une manière générale, l'utilisation abusive des antibiotiques chez les animaux de rente est considérée comme le facteur le plus important qui favorise l'émergence, la sélection et la diffusion de microorganismes résistants aux antibiotiques [215, 216]. Ainsi, en élevage avicole intensif (poulet et dinde de chair surtout), l'usage en continu des antibiotiques, augmente la pression de sélection de la résistance aux antibiotiques surtout chez la flore fécale [217].

La résistance aux antibiotiques est observée non seulement chez les bactéries pathogènes (principales cibles du traitement), mais aussi chez la flore endogène commensale qui représente un important partenaire dans le transfert des gènes de résistance à la flore pathogène [218, 219, 220].

En effet, la diffusion mondiale de bactéries résistante dans les aliments d'origine animale est une préoccupation majeure de santé publique ; le transfert potentiel de bactéries résistantes des produits de volaille à la population humaine peut se produire par la consommation ou la manipulation des viandes contaminées [221].

Une fois acquises, les bactéries résistantes peuvent coloniser l'intestin humain et les gènes codants la résistance peuvent être transférés à d'autres bactéries appartenant à la flore endogène de l'homme, mettant ainsi en péril le traitement efficace d'infection bactérienne [222].



### 6.3..2.1 résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées des omphalites

Les *entérobactéries* sont des bactéries qui peuvent causer une variété de maladies infectieuses et comprennent certains des agents pathogènes les plus mortels.

L'émergence et la propagation de la résistance dans les *entérobactéries* compliquent le traitement des infections en menaçant de créer des espèces résistantes à tous les agents anti-infectieux actuellement disponibles [223].

Les principales classes d'antibiotiques actuellement utilisés pour les infections à *entérobactéries* sont : les  $\beta$ -lactamines, les quinolones, les aminosides, les cyclines et les sulfamides [74].

#### A. Résistance des entérobactéries aux $\beta$ -lactamines

La résistance des *entérobactéries* aux céphalosporines est causée par la production de  $\beta$ -lactamases qui confèrent une résistance à toutes les pénicillines, aux céphalosporines de 1<sup>e</sup>, 2<sup>e</sup> génération et au moins une résistance aux céphalosporines 3<sup>e</sup>/4<sup>e</sup> génération [77, 223].

Selon Warren et al. (2008) [224], l'origine des BLSE communautaires serait la viande de poulet. Une autre étude qui a porté sur l'analyse génétique des BLSE présentes dans la viande de poulet et chez les humains a montré une grande similitude entre les deux [225].

Dans notre étude, une recherche phénotypique des BLSE a été établie et aucune n'a été retrouvée. Cela est en accord avec les résultats de Voets et al. (2013) [226] qui ont isolé uniquement des *E. coli* productrice de  $\beta$ -lactamases (type AmpC) dans la viande de volaille.

Cependant, une autre étude [227] et à l'inverse de nos résultats, a trouvé 60% des *entérobactéries* (BLSE) isolées de viande de volaille.

D'autres  $\beta$ -lactamases (telles que les AmpC) sont capables de conférer une résistance à toutes les pénicillines ainsi qu'à toutes les céphalosporines de 2<sup>e</sup> génération. Celles de 4<sup>e</sup> génération ne sont pas touchées. Chez la volaille, ces enzymes sont produites essentiellement par *Escherichia coli* [226, 228, 229] ; cependant d'autres bactéries sont

reconnues dans la littérature comme productrice d'AmpC : *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Pantoea spp* et *Pseudomonas aeruginosa* [77].

Dans notre travail des profils de résistance AmpC ont été identifiés chez 21.73% (20 des 92 souches) entérobactéries responsables d'omphalites. Avec le plus grand taux chez *E. coli*, Ceci est en accord parfait avec les résultats obtenus par Voets et al. (2013) [226].

Un autre type de  $\beta$ -lactamases, les carbapénèmases qui permettent la résistance au carbapénèmes. Ces antibiotiques sont considérés comme la dernière ligne thérapeutique pour traiter les infections dues à des bactéries multi-résistantes (MDR) [230, 231].

Au cours des quelques dernières années, la prévalence de la résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries (isolées chez les humains) a augmenté dans le monde entier [231, 232]. Le monde animal est lui aussi concerné par ce fléau, puisque des études ont démontré la présence de bactéries productrices de carbapénèmases chez les animaux (y compris ceux de rente) et dans leurs environnements [233, 234].

En effet des études ont isolé des *Salmonelles spp* productrice de carbapénèmases à partir d'un échantillon de poussières prises à l'intérieur d'un élevage de poulet de chair [234, 235]. D'autres études [234, 236] ont pu isoler des *Escherichia coli* productrice de carbapénèmases à partir de viandes de volaille. Ceci est en contradiction avec nos résultats, comme aucune des entérobactéries identifiées n'a présenté une résistance au carbapénèmes.

Selon un travail récent, Agabou et al. [237] n'ont pas pu prouver de clonalité entre des souches d'*E. coli* productrices de carbapénèmases (OXA48) isolées de cas humains avec des souches d'origine aviaire. Ce qui confirme l'absence de réservoir aviaire pour les bactéries productrices de ces enzymes.

#### B. Résistance des entérobactéries aux quinolones

Les quinolones et surtout les fluoroquinolones sont des antibiotiques à large spectre efficaces contre les bactéries Gram+ et Gram-. En raison de leur efficacité ils sont l'une des classes d'antibiotiques les plus couramment utilisés pour le traitement des infections

bactériennes chez l'humain et les animaux [238], et ils ont été jugés d'une importance cruciale par l'OMS (2008)[239].

L'émergence de bactéries résistantes aux quinolones à été observée chez les animaux, particulièrement ceux destinés à la consommation Humaines qui est de plus en plus préoccupante chez les espèces bactériennes zoonotiques [240].

Toute fois, nos résultats montrent une résistance considérable des *entérobactéries* aux quinolones et qui est remarquable chez *E. coli* (NA: 79.3%, OFX: 55.2%, CIP: 51.7%), *K. pneumoniae* (NA : 100%, OFX :50%, CIP :25%) et *Pantoea spp* (NA :100% , OFX: 50%, CIP: 33.3%).

Plusieurs études affirment l'émergence de cette résistance chez les entérobactéries isolées des viandes, environnement et cas cliniques chez la volaille [237, 241, 242, 243].

La présence de la résistance aux quinolones chez les bactéries isolées de nos poussins, laisse supposer qu'il y a eu une transmission verticale de ces souches. Chose qui a été prouvée par les travaux de [223]. Des bactéries résistantes aux quinolones ont pu être identifiées chez la poule reproductrice [244].

Par ailleurs, plusieurs études montrent la coexistence des gènes de résistance aux quinolones et les gènes de  $\beta$ -latamases à spectre étendu sur le même plasmide et chez la même bactérie [224, 245].

D'autres travaux ultérieurs montrent l'existence d'un lien clonal et épidémiologique des isolats d'*E. coli* résistantes aux quinolones entre le poulet de chair et l'homme [237].

Ces résistances croissantes et ses transmissions ont suscité une attention particulière à l'utilisation des quinolones chez les animaux (surtout en élevages avicoles) jusqu'à les interdire dans certains pays comme l'Australie, les USA, la Finlande et le Danemark [244].

### C. Résistance des *entérobactéries* aux aminosides

Ces antibiotiques à large spectre sont utilisés assez fréquemment en médecine humaine et vétérinaire [246].

La Gentamicine a été rapportée comme l'antibiotique le plus couramment utilisé dans les élevages de poulet de chair où elle est administrée à titre prophylactique chez les poussins d'un jour pour prévenir les infections bactériennes [247].

Dans notre étude, l'ensemble des *entérobactéries* présentent une résistance aux aminosides qui est frappante chez *K. pneumoniae* (GEN: 91.7%, Kan: 91.7%, AMK: 91.7%) et *Pantoea spp* (GEN: 100%, Kan:100%, AMK: 83.3%).

L'exposition professionnelle est la première cause de transmission de bactéries résistante aux aminosides entre l'animal et l'homme. La volaille est regardée comme source principale d'*E. coli* résistants aux aminosides pour les personnes travaillant dans les poulaillers [248; 246].

#### D. Résistance des entérobactéries aux cyclines

Notre étude actuelle montre une résistance remarquable des entérobactéries aux cyclines avec une prévalence de 53.3%.

Les cyclines sont utilisés comme additifs dans l'alimentation de volaille ce qui favorise l'apparition des résistances, cela a été affirmé par une étude faite par Levy et al. (2015) [249] sur un élevage de poulet de chair qui a reçu une alimentation additionnée de tétracyclines ce qui a favorisé l'apparition des coliformes résistantes à la tétracycline chez le poulet ainsi que le personnel s'occupant des oiseaux.

Une autre recherche a démontré la présence de 95% d'*E. coli* isolés de poulet résistants à la tétracycline [217].

#### E. Résistance des entérobactéries aux autres classes d'antibiotiques

Dans notre étude, d'autres résistances ont été signalées envers d'autres classes d'antibiotiques ; mais avec une proportion faible comme les phénicolés (6.5%), les polypeptides (7.6%), les sulfamides (38%) et les furanes (16.3%). Ces résistances ont été également démontrées par d'autres auteurs [250, 251].

### 6.3.2.2 Resistance aux antibiotiques des streptocoques isolés des omphalites

L'émergence des *entérocoques* résistants aux antibiotiques en forte proportion a été bien décrite chez les poussins d'un jour [252]. Ces bactéries présentent une résistance intrinsèque à une variété d'antibiotiques incluant les cephalosporines, les penicillines, les lincosamides et les aminoglycosides.

Selon nos résultats les *entérocoques* ont présenté une résistance presque totale aux tétracyclines et à l'érythromycine ces résultats vont dans le même sens que ceux d'Apata (2009) [222] qui a compté 80% de résistance aux tétracyclines et 59% à l'érythromycine.

Parmi les résistances qui ont également émergé et qui ont fait l'objet de plusieurs recherches, figure la résistance à la vancomycine qui a fait des glycopeptides comme stimulateur de croissance [253].

Quant à l'avoparcine, son incorporation dans l'aliment des volailles est faible ce qui pourrait produire une pression sélective conduisant à un développement de la résistance à l'égard de cette classe d'antibiotiques [254].

Dans notre étude *Enterococcus faecalis* a présenté 33.33% de résistance à la vancomycine.

Il est important de signaler que d'autres streptocoques utilisés comme des probiotiques notamment, les *Lactococcus cremosis* peuvent développer des résistances à la vancomycine aux tétracyclines et l'érythromycine [255].

Plusieurs études ont montré l'évidence de transmission de ces résistances de la volaille à l'homme [256].

### 6.3.2.3 Resistance aux antibiotiques des staphylocoques isolés des omphalites

La pénicilline, l'érythromycine, et les tétracyclines, sont abondamment utilisés pour traiter les staphylococcies chez la volaille [257].

Dans notre étude les staphylocoques isolés étaient sensibles à la plupart des antibiotiques testés. Les souches de *Staphylococcus aureus* ont montré une résistance envers l'érythromycine avec une prévalence de 25% et le seul staphylocoque coagulase

négatif à présenté une résistance en vers la fosfomycine. Nos résultats sont presque similaires à ceux d'Aarestrup et al. (2000) [258] et White et al. (2003) [259] qui ont enregistré une prévalence 24% et 12% respectivement des isolats de *S. aureus* résistants à l'érythromycine. Néanmoins ; concernant les autres antibiotiques, les résultats de White et al. (2003) [259] sont très différents des nôtres avec des isolats de *Staphylococcus aureus* résistants à la tétracycline (40%), à la lincomycine (19%) et à la kanamycine (8%). Egalement ceux d'Aarestrup et al. (2000) [258] ont montré une grande résistance aux fluoroquinolones, à la tétracycline et aux macrolides.

Récemment, l'isolement des *Staphylococcus aureus* (SARM) résistant à la méthicilline (oxacilline) a été rapporté chez la volaille avec une fréquence de plus en plus croissante [260;261]. Ce type de résistance était absent dans nos isolats.

Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) a émergé comme un important agent pathogène humain et animal, dès les années 1990 le SARM s'est répandu dans la communauté à travers le monde [23].

Au cour de la dernière décennie le SARM type multilocus 398 (St 398) désigné sous le nom livestock-associated strains (souche associé à l'élevage) s'est répandu chez les animaux et il a montré un potentiel de transmission zoonotique [261].

Le SARM a été isolé à partir de la viande crue de poulet en Corée [262] et au Japon [263], cependant, ces souches étaient associées au humains et non ceux associé à l'élevage.

Par ailleurs, une autre étude a isolé et pour la première fois le SARM associé à l'élevage (St 398) à partir de viande de volaille, prouvant la probabilité de transmission du SARM de la volaille à l'homme [260].

#### 6.3.2.4 Resistance aux antibiotiques des autres bacteries isolées des omphalites

##### A. *Pseudomonas aeruginosa*

Les résultats enregistrés dans notre travail montrent une sensibilité des souches de *P. aeruginosa* aux aminosides. Ceci est en concordance avec ce que Kelley (1998) [264] a décrit dans son étude des souches isolées des organes du poulet. En revanche nos résultats

sont très différents de ceux d'Iqbal (2006) [65], qui a isolé -des omphalites de poussins- *Pseudomonas spp* résistant aux aminosides, aux quinolones et aux fluoroquinolones.

En dehors de ces précédentes résistances, cette espèce a montré une résistance aux  $\beta$ - lactamines ( $\beta$ -lactamases à spectre étendu, métallo-carbapénémases et d'oxacillines à spectre élargi) et à la polymyxine [265].

#### B. *Acinetobacter spp*

En l'espace de 40 ans, *Acinetobacter* représenté principalement par l'espèce *baumani* est passé du statut de bactérie sans grand intérêt en infectiologie à celui de bactérie championne de la multirésistance (carbapénèmes, fluoroquinolones et aminosides) [266].

Les deux souches isolées de nos poussins ont présenté une résistance aux cyclines et au chloramphénicol. Aucune étude n'a été faite sur la sensibilité d'*Acinetobacter spp* aux antibiotiques chez la volaille ; mais cette bactérie a été pour longtemps associée à la putréfaction et la dégradation des carcasses des volailles [267].

#### C. *Pasteurella spp*

*Pasteurella spp* identifiée dans notre travail a montré une résistance vis-à-vis les phénicolés et les sulfamides ce qui est en conformité avec l'étude de Huang (2009)[268] avec des taux de résistance à tous les antibiotiques inférieurs à 5% sauf pour les tétracyclines (6.25%).

#### D. *Listeria spp*

L'unique *listeria* isolée était résistante à la pénicilline, aux quinolones et aux cyclines, ce qui est similaire aux taux décrits par Jang-Sung-Sik et al. (2006) [269] qui a isolé de carcasses de poulet, des *Listeria* résistantes à la pénicilline et à la tétracycline.

Contrairement à nos résultats Mayrhofer et al. (2004)[270] ont rapporté la sensibilité des *Listéria* d'origine aviaire aux : tétracycline, pénicilline, gentamicine, vancomycine, cotrimoxazol, érythromycine, chloramphénicol et streptomycine.

### *E. Ochrobactrum anthropi*

Est décrit comme l'un des bacilles Gram négatif le plus résistant aux antibiotiques, et ses souches cliniques sont multi-résistantes en particulier à toutes les  $\beta$ -lactamines sauf les carbapénèmes [284], par la production d'une  $\beta$ -lactamase de type AmpC.

Dans notre étude *Ochrobactrum anthropi* isolé de l'intérieur des œufs a présenté une sensibilité à tous les antibiotiques sauf à la colistine. Contrairement à l'étude d'El Adawya et al. (2012) [202] où les souches isolées du caecum de dinde ont présenté une résistance aux  $\beta$ -lactamines, au chloramphenicol et aux sulfamides avec une sensibilité variable vis-à-vis de la ciprofloxacine, la gentamicin et la tétracycline.

En conclusion et d'une manière générale, les bactéries résistantes ou les déterminants de la résistance aux antibiotiques peuvent passer de l'industrie avicole à la communauté humaine à travers la consommation des viandes et des œufs, à travers la contamination fécale de l'environnement par les fientes des oiseaux et les effluents des élevages et des unités de production et de transformation des produits avicoles [271, 272]. Une autre voie de transmission est représentée par le contact direct avec les oiseaux [273].

Le fait que des souches isolées de poussins collectés d'élevages différents aient les mêmes profils de résistance suggère l'approvisionnement en poussins de ces élevages à partir du ou des mêmes couvoirs et/ou l'approvisionnement de ces couvoirs par des œufs à couver issus des mêmes élevages de reproductrices. Ces souches vont se multiplier et coloniser le couvoir et les élevages par la suite [274].

Une autre explication est l'acquisition de ces souches ou des gènes de résistance de l'environnement contaminé (aux poulaillers). Cela a été prouvé par Miles et al. (2006) [275] pour la contamination avec des souches d'*E. coli* résistantes.

En aviculture, la co-sélection verticale et horizontale peut aussi contribuer à l'émergence de souches résistantes même en l'absence de l'utilisation des antibiotiques. Ceci a été bien documenté par Ingram et al. (2013) [276] pour les fluoroquinolones. Le transfert des gènes de résistance a été prouvé entre différentes souches d'*E. coli* et même avec d'autres *entérobactéries* au niveau du tube digestif [220, 277]. Ceci peu avoir lieu



entre les Gram+ et les Gram– dans la litière et même dans l'intestin des insectes colonisant ces dernières [278, 279, 280].

D'autres sources pour ces souches ou pour les déterminants de la résistance sont représentées par les humains (les éleveurs compris) [281], l'eau et les aliments contaminés [282], les animaux de compagnie [283] et les animaux (vertébrés et invertébrés) commensaux des élevages de volailles [286].

Ceci peut représenter une explication à la présence de souches résistantes par exemple aux céphalosporines, alors que ces antibiotiques ne sont guère utilisés en thérapeutique aviaire.

## Conclusion, recommandations et perspectives

Les résultats de ce travail prouvent sans aucun doute que l'ensemble des couvoirs étudiés ont des niveaux d'hygiène insuffisants attestés par l'isolement (de l'air, des surfaces et des œufs à couver) de différents groupes bactériens y compris certaines espèces potentiellement pathogènes pour la volaille ; mais surtout pour le consommateur (Agents zoonotiques tels que : *Listeria spp*, *Salmonella spp*, *E. coli*,...). Les charges microbiennes atteignent des seuils très élevés en raison des défaillances enregistrées dans la conception, la structure et le fonctionnement de ces unités en association avec le non respect des bonnes règles de nettoyage/désinfection. Ceci se traduit par une forte prévalence des omphalites (rebelles parfois aux antibiotiques) menaçant la viabilité des poussins (au couvoir et en élevage) et compromettant leurs performances ultérieures.

Ainsi, des mesures correctives sont à entreprendre en urgence afin de :

- produire un poussin de qualité au démarrage qui donnera un bon produit fini (*Well begun is half done*);
- éviter la propagation des contaminants au sein de toute la filière avicole (dont le couvoir est le noyau central) et au sein aussi de la communauté humaine ;
- écarter le danger potentiel lié à l'émergence et la dissémination de la résistance aux antibiotiques tant en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine.

Ces mesures doivent porter sur les éléments suivants :

- La rectification - dans la mesure du possible - de la conception et de la structure de ces couvoirs en réponse aux exigences de la biosécurité ;
- Le suivi scrupuleux des règles permettant un nettoyage/désinfection efficace (Choix du désinfectant et du détergent, respect du dosage et du temps de contact...);
- La désinfection des camions transportant les œufs à couver et/ou les poussins

- après chaque livraison ;
- L'affectation du personnel par poste de travail spécialisé et sa sensibilisation de l'importance du respect des règles d'hygiène et de la marche en avant. Ce personnel doit être obligé à tenir un carnet de bord (permettant l'enregistrement dans le moindre détail du fonctionnement du couvoir), à déceler les anomalies et à entreprendre les actions nécessaires en cas de leur survenue ;
  - La désinfection des œufs à couvrir dont la qualité microbiologique est directement liée à l'hygiène en élevages des reproducteurs chez qui il est important de dépister et de lutter contre la transmission verticale de certaines bactéries (*Salmonelles* entre autres) ;
  - Pratiquer des prélèvements pour évaluer la qualité bactériologique de l'eau, de l'air et pour évaluer l'efficacité de la désinfection des différents compartiments ;

Ce travail doit être poursuivi par d'autres investigations portant sur les éléments suivant :

- Inclure un plus grand nombre de couvoirs du secteur privé et étatique ainsi qu'un plus important nombre d'élevages;
- Intégrer à l'étude, tous les intervenants dans les différents segments de la filière avicole pour déterminer les niveaux de contamination et identifier l'origine exacte Des bactéries infectantes (traçabilité en se servant d'outils de biologie moléculaire) et définir ainsi les actions à mener lors des étapes du processus de production;
- Rechercher d'autres groupes bactériens comme les bactéries anaérobies (clostridies), citées dans d'autres travaux comme pathogènes responsables d'omphalite.
- Etudier la clonalité entre les souches surtout résistantes aux antibiotiques isolées chez les poussins et celles circulant dans la communauté.

Appendice A  
Liste des abreviations

AMP : Ampicilline  
AMC : Amoxicilline/Acide clavulanique  
ATCC: American Type Culture Collection  
NAL : Acide nalidixique  
AMK : Amikacine  
ATM : Aztréonam  
BCT : Bacitracine  
BLSE:  $\beta$ -lactamases à spectre étendu  
CEF : Céfalotine  
CTX : Céfotaxime  
CAZ : Céftazidime  
CRO: Céftriaxone  
CHL: Chloramphenicol  
COL: Colistine  
CLI: Clindamycine  
ECL: Eclosoir.  
ERY: Erythromycine  
EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments  
FOS : Fosfomycine  
FOT : Fosfomycine Trometamol  
FOX : Céfoxitine  
FUS : Acide fusidique  
GEN : Gentamycine  
Inc : incubateur  
IPM : Imipenem  
ITAVI : Institut technique de l'aviculture et de l'élevage des petits animaux  
KAN: Kanamycine  
LEV: Levofloxacin  
MDR: Multi drug resistance  
NIT : Nitrofurantoine  
OFX : Ofloxacin  
OXA : Oxacilline  
OIE : Office international des épizooties  
OMS : Organisation mondiale de la santé  
PIP : Pipéracilline  
PEN : Pénicilline  
PNV : Pénicilline/Novobiocine  
PRI : Pristinamycine  
P. INC : Plateau d'incubation  
P. ECL : plateau d'éclosion.  
RIF : Rifampicine

S. ECL : Salle d'éclosion  
S. INC : Salle d'incubation  
SNA : Syndicat national des accoueurs  
SXT: Trimethoprim/Sulfamethoxazole  
TCY: Tetracycline  
TCC: Ticarcilline/Acide clavulanique  
TOB: Tobramycine  
TIL: Tilmicosine  
TIO: Ceftiofur  
TEC: Teicoplanine  
USDA: United State Department of Agriculture.  
VAN : Vancomycine

## Appendice B

**QUESTIONNAIRE****BATIMENT**

Implantation (proche de)	Couvoir
	Elevage : .....
	Habitation
	Axes routiers
Etat des abords	Dégagés
	Présence de végétation
	Présence de caniveaux
Etat extérieur	Existence d'anfractuosités
Pédiluves, rotoluves.....	
Matériaux de construction (murs et plafond).....	
Nature du sol.....	
SAS (avec équipement)	Lavabo
	Tenues propres
Séparation secteur sain/secteur souillé	
Système d'aération	Statique
	Dynamique
	Grillage
	Filtre
	Direction du courant d'air.....
Système d'évacuation des eaux usées	
	Grillages
	Siphons
Nombre et état des salles de stockage des œufs à couver.....	
.....	
Nombre et état des salles d'incubation.....	
Nombre et état des salles d'éclosion.....	
Equipements	Chariots
	Matériel de stockage (nature)
	Incubateurs
	Eclosoir

Sources hydriques

Source naturelle

Puits

Réseaux

Analyses bactériologiques

Nettoyage :

À sec

Humide

A l'eau

Chaude

N de fois

Tiède

N de fois

Froide

Pression

Nom du détergent

Concentration

Durée

Désinfection :

Nom du désinfectant

Concentration

Pression

Fréquence

A quel intervalle

A chaud

Tiède

A froid

Fumigation :

Nom du produit

A froid

A chaud

Quels Locaux Du Couvoir Ont été

Nettoyés ? (Combien de fois)

L'extérieur

L'entrée

L'intérieur

Salles de stockage

Salle d'incubation

Salles d'éclosion

SAS

Désinfectés ? (Combien de fois)

L'extérieur

L'entrée





Pression

Nom du détergent

Concentration

Durée

Désinfection :

Nom du désinfectant

Concentration

Pression

Fréquence

A quel intervalle ?

A chaud

Tiède

A froid

Fumigation :

Nom du produit

A froid

A chaud

Incubateurs

Nettoyage

A sec

A l'eau

Chaude

N de fois

Tiède

N de fois

Froide

Pression

Nom du détergent

Concentration

Durée

Désinfection :

Nom du désinfectant

Concentration

Pression

Fréquence

A quel intervalle ?

A chaud

Tiède

A froid

Fumigation :

Nom du produit

A froid

A chaud



	À chaud	Tiède	À froid
Fumigation :			
Nom du produit			
	À froid		À chaud
<b>INSECTES ET RATS</b>			
Insectes	Oui (nombre).....		
	Non		
	Moyens de lutte.....		
Rats et souris	Oui (nombre).....		
	Non		
	Moyens de lutte.....		
Reptiles (serpent et lézards)	Oui (nombre).		
	Non		
	Moyens de lutte.....		
<b>VEHICULE DE RECEPTION DES ŒUFS</b>			
Propriétés du couvoir	Oui		
	Non (propriétaire).....		
	Nettoyage et désinfection après chaque livraison		
	Oui (Où).....		
	Non		
Servent-ils à effectuer d'autres services	Oui (Lesquels).....		
	Non		
<b>VEHICULE DE LIVRAISON DES POUSSINS</b>			
Propriétés du couvoir	Oui		
	Non (propriétaire).....		
	Nettoyage et désinfection après chaque livraison		
	Oui (Où).....		
	Non		
Servent-ils à effectuer d'autres services	Oui (Lesquels).....		
	Non		

**ŒUFS A COUVER**

Origine Importation  
 Reproductrice appartenant à la même ferme  
 Achetés d'un élevage de reproductrice national

Subissent-ils des contrôles bactériologiques  
 Oui (Où, germes recherchés).....

Devenir Des œufs clairs.....  
 Des œufs non éclos .....  
 Poussins morts.....

Désinfection Nom du désinfectant.....  
 Concentration.....  
 Lieu de désinfection.....  
 Technique.....

Fumigation Nom du produit

**PERFORMANCES ET FONCTIONNEMENT DU COUVOIR**

Avez-vous été confrontés à des problèmes d'origine infectieuse? Lesquels ?.....

.....

Mesures prises face à ces problèmes.....

.....

Capacité totale du couvoir

Taux d'éclosion

Type d'œufs à couvrir

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Boerjan, M.L., "INCUBATION FOR UNIFORMITY". Australian Poultry Science Symposium, (2006), 18.
2. Chaif, H.N., "Contribution à la mise en place d'un plan de maitrise sanitaire au sein d'une unité d'accoupage de poulet de chair ", mémoire master, université Abou Beker Belkaid, Telemcen, (2013), 31-34.
3. Hansets, E., "De l'œuf à l'autrichon", Edition : Les presses agronomiques de Gembloux", (2013) , p1-39.
4. Nau, F., Guérin, D.C et Barron, F., "Science et technologie de l'œuf volume 1 ,Production et qualité ", Edition Tec et Doc Lavoisier, (2010), 69-72.
5. Sedou, K.A., "Développement de l'œuf de la poule", université de Lome, Faculté des sciences, étude expérimentale d'un exposé.
6. Powell, K.A., Deans, E. A., Speake, E.B.K., "Fatty acid esterification in the yolk sac membrane of the avian embryo." Journal of comparative physiology, (2004), V.174, N°2, 163-168.
7. Schricke, E., "Façon de chasse : élevage et maladies", le point vétérinaire, (1991), 231.
8. Hubbard., "Guide d'incubation", (2010), 14, 18-35,47-48.
9. COBB., "Guide d'élevage des reproducteurs", (2008),43-45.
10. OIE., "Procédures d'hygiène et de sécurité sanitaire dans les élevages de volailles reproductrices et les couvoirs, (2010)." C h a p i t r e 6.4, 1-4.
11. Hubbard., "Guide d'élevage des reproducteurs", (2010), pp : 37-39.
12. Leborgne, M.C., Tanguy, J.M., Foisseau, J.M., Sellin, I., Vergonzanne, E.W., "Reproduction des animaux d'élevage, zootechnie", 3ème édition, (2013) ,434-435-451.
13. Hrnčár, C., Prachárová, S., Bujko, J., "The effect of disinfection of hatching eggs on hatchability of Oravka chickens". Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies, (2012), N° 45 [2].

14. Leksrisonpong, N., Romero Sanchez, R., Plumstead, P.W., Brannan, K.E., and Brake, J., "Broiler incubation.1.Effect of elevated temperature during late incubation on body weight and organs of chicks." Poultry science, (2007), N°86:2685-2691.
15. Yassin, H., Velthuis, A.G.J., Boerjan, M., Van Riel, J., and Huirne, R.B.M., "Field study on broiler eggs hatchability". Poultry science, (2008), N°87, 2408-2417.
16. Ipek, A., Sözcü, A., "Broiler Chick Quality And Scoring Methods". Journal of Agricultural Faculty of Uludag University. V.2, (2013) ,131-137.
17. Sauveur, B., " Reproduction des volailles et production d'œufs", Edition INRA, (1988).
18. Geldam, Y.A., BUKAR, M.M. and AMBALI, A.G., "Chick quality control: a key to a sustain'able poultry production in nigeria". Nigerian Veterinary Journal, (2006), V.27, N°2, 1-6.
19. Van de Ven, L.J.F., van Wagenberg, A.V., Uitdehaag, K. A., Groot, P.W.G., Koerkamp ., Kemp, B and van den Brand, H., "Significance of chick quality score in broiler production". Animal Consortium, V.6, N°10, (2012), 1677–1683.
20. Kehler, L., "Omphalitis and Yolk sac infection". Canadian poultry, [www.canadianpoultry.com](http://www.canadianpoultry.com), (2008), consulté le 18 octobre 2015.
21. Decuypere, E., Buys, J., and Buys, N., "Ascites in broiler chickens: exogenous causal factors", word's poultry science journal ,(2008), N°56, 367-377.
22. Villate, D., Gavard-Gongallud, N., "L'élevage du gibier à plumes: élevage, pathologie, habitat, populations". Edition France agricole, (2000), 163-164.
23. Saif, Y.M. et al., "Diseases of poultry", 12ème edition Black well, (2008), 4,406,691-703, 896,942-947.
24. Boejan, M., "Chick vitality and uniformity". International hatchery practice, v.20, N°8, (2008), 7-9.
25. USDA., united states Department of Agriculture., "Best management and practices handbook: A guide to the mitigation of Salmonella contamination at poultry hatcheries" , United States Department of Agriculture ,Animal and Plant Health, Inspection Service, Veterinary Services, National Poultry Improvement Plan, (2014), 7-10.
26. ITAVI (Institut Technique de l'Aviculture et de l'Élevage des petits animaux). "Aménagement des couvoirs.", (2003).

27. Tweed, S., "understanding hatchery ventilation" (2010), 1-2.
28. ITAVI., "Eau de boisson en élevage avicole un levier majeur de réussite". Edition (novembre 2007).
29. Hill, D., "Hatchery Design and Technology", (2005).
30. Samberg, Y et Meroz, M., "Application of disinfectants in poultry hatcheries". Revue scientifique et technique, (1995), 14 [2], 365-380.
31. Hafez, M.H., "Breeder farms and hatchery as integrated operation". Lohmann Information, Vol. 42, N°1, (2007), 29.
32. www.sapoultry.co.za, "The South African poultry association abridged code of practice: chick hatching", (2012), consulté le 12/10/2015.
33. Gehan, Z.M., "A new Approach to evaluate the hygienic condition of commercial hatcheries". International journal of poultry science, (2009) ,V.8,N11,1047-1051.
34. Knape, K.D., Chavez, C., Burgess, R.P., Coufal, C.D., and Carey, J.B., "Processing and products: Comparison of Eggshell Surface Microbial Populations for In-Line and Off-Line Commercial Egg Processing Facilities". Poultry Science, (2002), N°81,695–698.
35. Shahein, E.H.A and Eman, K.S., "Role of spraying hatching eggs with natural disinfectants on hatching characteristics and eggshell bacterial counts". Poultry Science, (2014), V.34, N°1,213-230.
36. Kim, J.H et Kim, K.S., "Hatchery hygiene evaluation by microbiological examination of hatchery samples" .Poultry Science, (2010), N°89, 1389–1398.
37. Sarakbi, T., "Biosecurity in hatcheries", Poultry of Middle East and north Africa N159, (Jul – Aug 2001), 22 – 23.
38. SNA., "Syndicat national des accoueurs : charte de qualité", (2003),6-26.
39. Hamet, N., "Manuel de pathologie aviaire : L'aspergillose aviaire" Edition:Maison Alfort,(1992), 289 – 293.
40. Delquigny, T., Goater, E et Gautier, P., "Guide de bonnes pratiques pour les élevages reproducteurs Gallus Gallus et les couvoirs de l'Afrique de l'ouest."United state Agency international development [USAID]. (2011), N°3,5-15.
41. Lamoulen, M., "L'incubation artificielle", L'aviculture française, Edition :Rosset,

(1988), 227 – 238.

42. Goater, E., "La prévention des maladies transmissibles par l'œuf et hygiène du couvoir" ., L'aviculture française, Edition : Rosset, (1988), 611 – 616.
43. Nichols, A.A., Leaver, C.W., "Hatchery hygiene evaluations as measured by Microbiological examination of samples of fluff". British Poultry Science, (1967), V. 8, N°4, 297-310.
44. Skorska, C., Mackiewicz, B., Golec, M., Cholewa, G., Chmielowiec-Korzeniowska, A., Dutkiewicz, J., "Health of exposure to organic dust in workers of a modern hatchery". Annals of Agricultural and Environmental Medicine. V.14, (2007),341-345.
45. Yauschew-Raguenes, S., "Qualité de l'air dans les couvoirs : quel impact sur la santé des salariés ?", Thèse de doctorat en médecine, université de Bretagne occidentale, (2013) ,19-21.
46. Mitchell, B.W. et Waltman, W.D. "Reducing Airborne Pathogens and Dust in Commercial Hatching Cabinets with an Electrostatic Space Charge System". Avian Diseases. V.47, (2003), 247.
47. Chirol, C., "Le laboratoire de bactériologie" In manuel de pathologie aviaire Edition : Maison Alfort,(1992), 219 – 224
48. Turblin, V., "Microbiological tools for quality assurance in hatchery: sampling procedures". Ceva N°28, (January 2010).
49. Tber, A., Jerrari, C., Bouzoubaa, K., Mouahid, M., Jouazi, T., Amara, A et Elhouadfi, M., "Evaluation de l'état hygiénique des couvoirs nationaux", Le point sur l'aviculture au Maroc, institut agronomique et vétérinaire Hassan II, (1994).
50. Chmielowiec-Korzeniowska, A., Tymczynna, L., Drabik, A., "Biological pollutants of air in poultry hatchery hall", ISAH-2007 Tartu, Estonia,2007, 962-965
51. Sadler, R., Cité par TBER, A., et al, "Evaluation de l'état hygiénique des couvoirs nationaux", Le point sur l'aviculture au Maroc, institut agronomique et vétérinaire Hassan II, (1994) ,145 – 152.
52. Maris, P., "Comparaison de quatre techniques de prélèvements de bactéries sur ciment,Fibrociment et acier dans des bâtiments avicoles".Annales de recherche veterinaire, V.19,N°3, (1988),181-185.
53. Bourgeois, C.M., Mescle, J. F et Zucca, J., "La prévention des contaminants, In microbiologie alimentaire, tome 1 : aspect microbiologique de la sécurité et de la



qualité des aliments”, (1996), 443-458.

54. Drouin, P et Toux, J. Y., “La décontamination des poulaillers de volailles au sol”, Revue sciences et technologies avicoles, numéro hors série : la maîtrise en élevage avicoles, (Septembre 2000) ,39 – 52 .
55. Correge, I., De Azevedo Araujo, C et Le Roux, A., “Mise au point d'un protocole de contrôle du nettoyage et de la désinfection en élevage porcin”.Journées Recherche Porcine, N°35, (2003) ,419-426.
56. Mircovich, C et Minvielle, B., “Nettoyage-désinfection des porcheries d'attente à l'abattoir : maillon dans la lutte contre la contamination des porcs par les *Salmonelles*”, Document publié par l'Institut Technique du Porc, (Juin 2004), 1- 19.
57. Lisa, K., Nolan, H., Barnes, J., Vaillancourt, J-P., Tahseen, A.A, and Logue, C. M., “Colibacillosis”: chapitre 18 In David Swain et al, “diseases of poultry”, 13th ed, Wiley- Black Well edition, (2013), 751-756.
58. Kawalilak, L. T., Ulmer Franco, A. M., and Fasenko, G. M., “Impaired intestinal villi growth in broiler chicks with unhealed navels”. Poultry Science Association Inc, Poultry Science.
59. Gerd de lange ., “Preventing Omphalitis to reduce first week mortality”, (2009),www.pasreform.com, Consulté Le 22/09/2015.
60. Rai, M.F., Khan, S.A., Aslam, A and Saeed, K., “Effect of Yolk Sac Infection in chicken”, Avian and poultry Biology Reviews, 16(2), (2005), 87-93.
61. Shringi, A., Mandovera, V., Pachoury, R., Godara, A., “A study on omphalitis in newly born chicks”, international journal of scientific research, v. 3, (2014), 2277-8179.
62. Fasenko, G.M et O'Dea, E.E., “Evaluating Broiler Growth and Mortality in Chicks with Minor Navel Conditions at Hatching”. Poultry Science, (2008), (87):594–597.
63. Elanco ., “Chick quality and first week mortality”,(4/5/2012), Diapositive consulté le 9/11/2015.
64. Cortés, C., Isaías ,G.T., Cuello, C.L., Flores, J.M.V., Anderson, R.C., Campos, C.E., “Bacterial isolation rate from fertile eggs, hatching eggs, and neonatal broilers with yolk sac infection”, Revista Latinoamericana de Microbiología,v.46,N°1-2, (2004) ,12-16.
65. Iqbal, M., SHAH, I.A ., ALI, A., KHAN M. A. AND JAN, S., “Prevalence and in vitro antibiogram of bacteria associated with omphalitis in chicks”,Pakistan Vet. J.,

(2006), 26(2), 94-96.

66. Nasrin, S., Islam, M. A., Khatun, M., Akhter, L., and Sultana, S., "Characterization of bacteria associated with omphalitis in chicks", *The Bangladesh Veterinarian* (2012) 29(2), 63 – 68.
67. Abadi, A., Amin, A.M., Shiferaw, A., Nazir, S and Negussie, H., "Yolk Sac Infection (Omphalitis) in Kombolcha Poultry Farm, Ethiopia" *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, (2013), 8 (1): 10-14.
68. Al.Husseina, S., HASSANB, A.H., SULAIMANC, R.R., "Bacteriological and pathological study of yolk sac infection in broiler chicks in sulaimani district". *Kurdistan 1st Conference on Biological Sciences Journal of Dohuk University.*, Vol. 11, No.1, (2008).
69. Cox, N. A., Berrang, M.E., and Cason, J. A., "*Salmonella* Penetration of Egg Shells and Proliferation in Broiler Hatching Eggs. *Poultry Science*",(2000), 79,571–1574.
70. Khan, K.A., Khan, S.A., Aslam, A., Rabbani, M and Tipu, M.Y., "Factors contributing to yolk retention in poultry". *Pakistan veterinary Journal*; (2004), 24 (1).
71. Ashraf, M., Arif, Q., and Khan, K. A., "Efficacy of gentamicin after intrayolk administration in experimentally induced omphalitis in broiler chicks". *pakistan veterinary journal*, (2002), 22(4).
72. Martel, J.L. et Chaslus-Dancla, E.; "Aspect pratique de la résistance aux antibiotiques en médecine vétérinaire". *Médical maladies infectieuses*, (2000), N°3 ,73-7.
73. Moritz,van Vuuren., "Résistance aux antibiotiques, notamment en aviculture". *Conference. (OIE 2001)*, 123-134.
74. Landoni, M.F., Albarelllos, G., "The use of antimicrobial agents in broiler chickens". *The Veterinary Journal*, V.205, (2015), 21–27.
75. Schwarz, S., and Chaslus-Dancla, E., "Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance", *Veterinary Research*,(2001), N°32, 201-25.
76. Giguère, S., Prescott, J.F., Dowling, P.M., "Antimicrobial therapy in veterinary medicine", fifth Edition; (2013), 105-106.
77. Robin, F., Gibold, L., Bonnet, R., "Résistances naturelles et acquises aux B-lactamines chez les entérobactéries".*Revue Francophone des Laboratoires : AntibioGramme et son Interprétation phénotypique*, N°455, (Septembre-Octobre 2012), 47.

78. Cavallo, J.D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., Garrabé, E., "Bêtalactamines". *Maladies infectieuses*, 1, (2004) ,129-202.
79. Caruba, T., Jaccoulet, E., "Antibiotiques.Pharmacologie et thérapeutique", (2e édition), (2015) ,47-56.
80. Yala, D., Merad, A.S., Mohameddi , D ., Ooar Korich, M.N., "Classification et mode d'action des antibiotiques". *Ed Médecine du Maghreb*. (2015), 91 :1.
81. Poisson, J., "Glycoaminosides ". In *Traite de chimie thérapeutique v.2 : "Médicaments antibiotiques"*. Edition Tec et Doc. Lavoisier. (1992).
82. Dowling, P.M. and A.M. Russell., "Pharmacokinetics of a long-acting oxytetracycline polyethylene glycol formulation in horses." *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, (2000), 23(2):107-10.
83. Mammeri, H., "Cour : Mode d'action des antibiotiques et mécanismes de résistance" ; service de bactériologie ; CHU d'Amiens,(2008).
84. Nordmann, P., "L'émergence de la résistance aux quinolones chez les entérobactéries", *Pathologie et Biologie*, 2006, 54, 7-9.
85. Faure, S., "Les quinolones et les fluoroquinolones". *Actualités pharmaceutiques*, (2008), 447,41-43.
86. Van, Bambeke, F., Tulkens, P., "pharmacologie et pharmacothérapie anti-infectieuse (antibiotiques et antifongiques) ", (2008)13-18.
87. Cours de biotechnologie terminale STL, p : 104. Consulté le 26/11/2015.
88. Agunos, A., Leger, D., Carson, C., "Review of antimicrobial therapy of selected bacterial diseases in broiler chickens in Canada". *The Canadian Veterinary Journal, La revue vétérinaire canadienne*, (2012), 53, 1289–1300.
89. Hao, H., Cheng, G., Iqbal, Z., Ai, X., Hussain, H.I., Huang, L., Dai, M., Wang, Y., Liu, Z., Yuan, Z.H., "Benefits and risks of antimicrobial use in food-producing animals". *Frontiers in Microbiology*, (2014),5, 288.
90. "Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale " (Médecine humaine et vétérinaire), Institut pasteur d'Algérie, 6ème Edition, (2011).
- 91 Carman, R. J., and Woodburn, M.A ., "Effects of low levels of ciprofloxacin on a chemostat model of the human colonic microflora. *Regulatory Toxicology and Pharmacology - Journal - Elsevier*, (2001), 33:276-284.
92. Guyomard, P.A., Poul, J. M., Laurentie, M., Sanders, P., Fernandez, A. H., And Bartholomew, M., "Impact of ciprofloxacin in the human-flora-associated (HFA) rat

- model: comparison with the HFA mouse model". *Regul Toxicol Pharmacol*, (2006), 45:66-78.
93. Van den Bogaard, A.E., Stobberingh, E., "Epidemiology of resistance to antibiotics Links between animals and humans". *International Journal of Antimicrobial Agents* 14, (2000), 327–335.
  94. Anon., "Antimicrobial resistance: implications for the food, system Review Food Science. And food safety", (2006), 5: 71-137.
  95. Boerlin, P and Reid-Smith, R.J., "Antimicrobial resistance: its emergence and transmission". *Animal Health Research Reviews - ResearchGate*, (2008), 9(2), 115-126.
  96. Schwarz, S ., and Chaslus-Dancla, E., "Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance". *Veterinary Research*, (2001), 32: p: 201-225.
  97. Guerin-Fauble, V., "Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques". In : *Journées Nationales des GTV, Lille, 26-27-28 (juillet 2010)*, 93-102.
  98. Guillemot, D., Brisabois, A ., Brugere, H.,Guillot, J.F, Laval, A., Millemann, Y et al. "Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments". (2006).
  99. Harbottle, H., "Genetics of antimicrobial resistance". *Animal Biotechnology*, (2006). 17(2), 111.
  100. Lorenz, M.G. and Wackernagel, W., "Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment". *Microbiology Review*, (1994). 58(3), 563-602.
  101. Clewell, D.B., "Bacterial conjugation". Willets, N., Chapitre 1, Edition Plenum, (1993), 1-2.
  102. Doublet, B., Boyd, D.A., Mulvey, M.R., Cloeckert, A., "The *Salmonella* genomic island 1 is an integrative mobilisable element". *Molecular Microbiology*, (2005), 55, 1911-1924.
  103. Wax, R.G., Lewis, K., Salyers, A.A., Taber, H., "Bacterial resistance to antimicrobials". Second edition; (2008).p: 14.
  104. Hall, R.M., "Mobile gene cassettes and integrons: moving antibiotic resistance genes in gram-negative bacteria", *Ciba Foundation Symposium.*, (1997). 207,192-202.

105. Recchia, G.D. and Hall, R.M., "Gene cassettes: a new class of mobile element". *Microbiology*, (1995), 27.
106. AFSCA., "Echantillonnage bactériologique pour le contrôle du nettoyage et de la désinfection dans les abattoirs et ateliers de découpe", (2002), Source : agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire.
107. Golden Surfer 11.0.642, Golden, Co, (July 2012): "User's manual".
108. Gratton, Y., "Le Krigeage : La méthode optimale d'interpolation spatiale". *Les articles de l'Institut d'Analyse Géographique* (Juin 2002), 1- 4.
109. Bauer, AW ., Kirby, WM ., Sherris, JC., Turck ,M ., "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method" *American Journal of Clinical Pathology*.(1966 Apr), 45(4):493-496.
110. CASFM-EUCAST., "Comite de l'antibiogramme de la société française de microbiologie- european comitee on antimicrobial susceptibility testing", (2015) ,37-86,107.
111. CLSI-FDA., "CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE-FOOD AND DROG ADMINISTRATION", (2013).
112. Kafshdouzan, Kh ., Zahraei, S.T., Nayeri, F.B., Madadgar, O., Yamasaki, Sh., Hinenoya, A., Yasuda, N., "Distribution of virulence associated genes in isolated *Escherichia coli* from avian Colibacillosis", *Iranian Journal of Veterinary Medicine IJVM* (2013), 7(1):1-6.
113. Singer, R. S., Jeffrey, J. S., Carpenter, T. E., Cooke, C. L., Atwill , E. R., Johnson, W. O., Hirsh, D. C., "Persistence of cellulitis-associated *Escherichia coli* DNA fingerprints in successive Broiler chicken flocks". *Veterinary Microbiology*. 3; 75(1). (Jul 2000), 59-71.
114. Lecoanet, J., "manuel de pathologie aviaire", Edition : Maison Alfort, (1992), 237 – 240.
115. Dzoma, B.M et Dorrestein, G.M., "Yolk Sac Retention in the Ostrich (*Strutio camelus*): Histopathologic, anatomic, and physiologic considerations". *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 15. (2001), 81-89.
116. Stehling, E.G., Campos, T.A., Azevedo, V., Brocchi, M., and Silveira, W.D., "DNA sequencing of pathogenicity-related plasmid of an avian septicemic *Escherichia coli* strain". *Genetics and Molecular Research*, (2007), 6:231-237.
117. Ahmed ,M.D., Hashmi, R.A., Anjum, A.A., Hanif, A., and Ratyal, R.H., "Drinking water quality by the use of conco red medium to different between pathogenic and

- non pathogenic coli at poultry farms". *Journal of Animal and Plant Sciences*, 19, (2009), 108-110.
118. Ghanbarpour, R., Salehi, M., and Oswald, E., "Virulence genotyping of *Escherichia coli* isolates from avian cellulitis in relation to phylogeny". *Comparative Clinical Pathology* ,(2010), 19:147-153.
  119. Ewers, C ., Antao, E.M., Diehl, I., Philipp, H.C., Wieler, L.H., "Intestine and Environment of the Chicken as Reservoirs for Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Strains with Zoonotic Potential". *Applied and Environmental Microbiology*. (2009), 75: 184–192.
  120. Mora, A., López, C., Dabhi. G., Blanco, M., Blanco, .E., Alonso, M.P, Herrera, A, Mamani, R., Bonacorsi, S., Moulin-Schouleur, M and Blanco, J., "Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* O1:K1:H7/NM from human and avian origin: Detection of clonal groups B2 ST95 and D ST59 with different host distribution" (2009),*BMC Microbiol.* 7; 9:132.
  121. Campos, T.A., Lago, J.C., Nakazato, G., Stehling, E.G., Brocchi, M., Castro A.F.P. & Silveira, W.D., "Occurrence of virulence-related sequences and phylogenetic analysis of commensal and pathogenic avian *Escherichia coli* strains (APEC)". *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 28(10), (2008), 533-540.
  122. Agabou, A., Lezzar, N., Ouchenane, Z., Khemissi, S., Satta, D., Sotto, A., Lavigne, J.P., Pantel, A., "Clonal relationship between human and avian ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* isolates in North-Eastern Algeria". *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. (2015), DOI10.1007/s10096-015-25343.
  123. Spaulding and Rothman ., "*Escherichia vulneris* as cause of intravenous catheter-related bacteremia", *Clinical Infectious Diseases*,22,1996, 728–729.
  124. Levine and Goldberg ., "*Escherichia vulneris* osteomyelitis of the tibia caused by a wooden foreign body". *Orthopedic Reviews*"., 23, (1994), pp. 262–265.
  125. Awsare and Lillo ., "A case report of *Escherichia vulneris* urosepsis". *Clinical Infectious Diseases*, 13 ,(1991), 1247–1248.
  126. Mohanty, S., Chandra, SP., Dhawan, B., Kapil, A., Das, B.K., "Meningite due à *Escherichia vulneris*", *Neurology India*, 53 (2005), 122-123.
  127. Brenner, D.J., McWhorter, A.C., Leete Knutson, J.K., Steigerwalt, A.G., "*Escherichia vulneris*: Une nouvelle espèce d'entérobactéries associée aux Blessures humaines". *Clinical Microbiology Journal*, 15, (1982), pp. 1133-1140.
  128. Le Querler, L., Donnio, P.Y., Poisson, M., Rouzet-Gras, S., Avril, J.L., "Isolation of

- Escherichia vulneris* in drinking water”. *Annales de Biologie Clinique*, 55, (1997), 33-35.
129. Jepsen, C.F., Klebe, T.M., Prag, J., “*Vulneris Escherichia* dans la plaie d’un footballeur danois” *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 29, (1997) ,313-314.
  130. Kilonzo-Nthenge, A., Nahashon, S.N., Chen, F., and Adefope, N., “Prevalence and Antimicrobial Resistance of Pathogenic Bacteria in Chicken and Guinea Fowl”. *Poultry Science* 87, (2008), 1841–1848.
  131. Mishra, S.K., Agrawal, D., “A Concise Manual of Pathogenic Microbiology”. Edition: Wiley-Blackwell, (2013), 75.
  132. Davis, G.S. et al., “Intermingled *Klebsiella pneumoniae* Populations between Retail Meats and Human Urinary Tract Infections”. *Clinical Infectious diseases*,(2015), doi: 10.1093 / cid / civ428.
  133. Mardaneh, J et Soltan Dallal, M.M., “Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of *Pantoea (Enterobacter) agglomerans* isolated from consumed powdered infant formula milk (PIF) in NICU ward: First report from Iran”. *Iranian Journal of Microbiology*, (2013 Sep);5(3), 263–267.
  134. Guérin, F., “Infections par *Enterobacter cloacae* complexe: résistance aux Antibiotiques et traitement”. *Journal des anti-infectieux*, V .17, N°3, (Octobre 2015), 79-89.
  135. Songer, J.G., Poster, K.W., “*Veterinary Microbiology Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease*”. Elsevier Health Sciences, (3 november 2004).
  136. Rachidi-Sidhoum, N et Brugere-Picoux, J., “Autres affections bactériennes”, In *manuel de pathologie aviaire*, Edition : Maison Alfort, (1992), 267 – 272.
  137. Kushwaha, K., Babu, D., Juneja, V.K., “*proteus spp*”, *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*, (2014),238-243.
  138. Kishore, J., “Isolation, identification & characterization of *Proteus penneri* - a missed rare pathogen” *Indian Journal of Medical Research*, (2012 Mar), 135(3): 341–345.
  139. Cox, N. A., Berrang, M. E., and Cason, J. A., “*Salmonella* Penetration of Egg Shells and Proliferation in Broiler Hatching Eggs”. *Poultry Science* 79, (1997), 1571–1574.
  140. Cason, J.A ., Cox, N.A ., Bailey, J.S., “Transmission of *Salmonella typhimurium* during hatching of broiler chicks”. *Avian Disease*: 38(3), (1994), 583 -588.
  141. Friend, M et Franson, J.C., “Avian cholera, Tuberculosis, Salmonellosis,

Chlamydiosis, Mycoplasmosis, Candidiasis, Avian pox, Newcastle disease, Avian influenza, Field Manual of Wildlife Diseases". General Field Procedures and Diseases of Birds, Edition: USGS, (1999), 75 – 184.

142. Chen, S. J., Lee, T. E., Wang, E. M., Cho, T. J et Wang, C. H, "Monitoring the hygiene of chicken hatcheries in Taiwan during 1999 – 2001", Journal of Microbiology, Immunology and Infection : 35, (2002), 236 – 242.
143. Huang-Lioua, Bo ., Wang Duh,R ., Lin,Y ., Yang Lauderdale, T.L., Fung, C.P., "A multicenter surveillance of antimicrobial resistance in *Serratia marcescens* in Taiwan", Journal of Microbiology, Immunology and Infection (2014) 47, 387-393.
144. Hejazi, A., and Falkiner, F.R., "The pathological society of great britain and ireland review article *Serratia*". V.46, (1997), 903-912.
145. Giráldez, E. M., Pavón, P., Losada, A., "Skin Infection Due to *Serratia marcescens* in an Immunocompetent Patient". Actas Dermo-sifiliograficas. (2011Apr); 102(3):236-237.
146. Koranyi, K.I., Marcon, M. J., "Less Commonly Encountered *Enterobacteriaceae*", Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fourth Edition), Part III, (2012), 808-810.
147. Dalamaga, M., Karmaniolas, K., Arsenis, G., Pantelaki, M., Daskalopoulou, K., Papadavid, E., Migdalis, I., "*Cedecea lapagei* bacteremia following cement-related chemical burn injury". Burns, V.34, Issue 8, (December 2008), 1205-1207.
148. Lopez L. A. S ., Ibarra, B.S ., Cárdenas de la Garzac, J., Perez Rada, F.J.M., Sepúlveda Nuñez, A.I., Rodríguez López, M.G., "First reported case of pneumonia caused by *Cedecea lapagei* in America", The Brazilian Journal of Infectious Diseases, V.17, Issue 5, (September–October 2013),626-628.
149. Çekin, Y., Kızılateş, F., Dolu, S., Öztoprak, N., Çekin, A., "The first urinary tract infection caused by *Cedecea lapagei*": a case report and review of the literature, Gaziantep Med J ., 20 (2), (2014),193-195.
150. Rakin, A., Garzetti, D., Bouabe, H., Sprague, L.D., "*Yersinia enterocolitica*", International journal of food microbiology, 21(2014), 9511-9521.
151. Esnault, E., Labbé, A., Houdayer, C., Denis, M., "*Yersinia enterocolitica*, prevalence, on fresh pork, poultry and beef meat at retail level, in France". Safepork (2013), Proceedings, 75.
152. Chihab, W., Alaoui, A.S., and Amar, M., "*Chryseomonas luteola* Identified as the Source of Serious Infections in a Moroccan University Hospital". Journal of clinical



- microbiology, (Apr. 2004), p. 1837–1839.
153. Walker, S.E., Sander, J.E., Cline, J.L, Helton, J.S., “Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates associated with mortality in broiler chicks “.Avian Diseases, (2002),46 (4),1045-1050.
  154. Baum, B., Richter, B., Reifinger, M., Klang, A., Finnberg, C., Loncaric, I. , Spersger, J., Eisenberg, T., Künzel, F.S., Preis ,N., Pantchev ,B., Rütgen ,A. Guija de Arespachoga ,M., Hewicker-Trautwein .,“Pyogranulomatous Panniculitis in Ferrets (*Mustela putorius furo*) with Intra lesional Demonstration of *Pseudomonas luteola*”. Journal of comparative pathology. 152(2-3) , (2013) ,114-118.
  155. Baumann, P., Doudoroff, M., Stanier, R. Y., “A study of the Moraxella group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*)”. Journal of bacteriology,(1968),95:1520-1541.
  156. Fournier, P.E., Vallenet, D., Barbe, V., Audic, S., Ogata, H., Poirel, L., Richet, H., Robert, C., Mangenot, S., Abergel, C., Nordmann, P., Weissenbach, J., Raoult, D., Claverie, J.M., “Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*”, (2006), PLoS Genet. 2 E7.
  157. Phillips, M., “*Acinetobacter* Species”, Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (Eighth Edition) ,V. 2, (2015), 2552–2558.
  158. Giguère, D., “Surface polysaccharides from *Acinetobacter baumannii*: Structures and syntheses”. Dans la revue Carbohydrate Research; V.418, N°11, (December 2015), 29–43.
  159. Vanechoutte, M., Devriese, L., DIJKSHOORN, L., LAMOTE,B., Deprez, P., verschraegenu, G and Haesebrouck, F., “*Acinetobacter baumannii* infected vascular catheters collected from horses in an equine clinic”. Journal of clinical microbiology. 38(11), (2003) , 4280-4281.
  160. Gaschen, F., Burnens ,N., “The role of *Acinetobacter baumannii* as a nosocomial pathogen for dogs and cats in an intensive care unit”.journal of veterinary internal medicine, 14(2),(2000), 177-183.
  161. Boerlin, P., Eugster, S., Gaschen, F., Straub, R., Schawalder, P., “Transmission of opportunistic pathogens in a veterinary teaching hospital”, Veterinary Microbiology. ; 82(4), (2001) ,347-359.
  162. Pailhoriès, H ., Belmonte, O ., Kempf ,M ., Lemarié, C ., Cuziat, Julien ., Quinqueneau, C ., Ramont, C ., Joly-Guillou, M.L., Eveillard, M., “Diversity of

- Acinetobacter baumannii* strains isolated in humans, companion animals, and the environment in Reunion Island: an exploratory study”, *International Journal of Infectious Diseases*: V 37, (2015), 64–69.
163. Zhang, W.J., Zongji, Lu ., Schwarz, S., Zhang, R. Min., Wang, X.M., Shenye Yu, W S., Liping Chen and Liu, S., “Complete sequence of the blaNDM-1-carrying plasmid pNDM-AB from *Acinetobacter baumannii* of food animal origin”, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy Advance Access published February 28*, (2013).
  164. Levy, S.T., Steinman, A., Carmeli, Y ., Klement, E., Shiri, N.V ., “Prevalence and risk factors for colonization with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and other *Staphylococci species* in hospitalized and farm horses in Israel”, *Preventive Veterinary Medicine*: Available online (16 September 2015).
  165. Jia Xu., Xiao Tan., Xinyu Zhang., Xiaoli Xia., Huaichang Sun., “The diversities of staphylococcal species, virulence and antibiotic resistance genes in the subclinical mastitis milk from a single Chinese cow herd. *Microbial Pathogenesis*: V. 88, (2015), 29–38.
  166. Mead, G.C., “Food Safety control in the poultry industry”. Edition CRC, New YORK, Washington, (2005), 27-28.
  167. White, D.G et al., “Antimicrobial susceptibilities of *Staphylococcus aureus* isolated from commercial broilers in northeastern Georgia”, *Avian Dis*, (2003), 47, 203-210.
  168. Rai, M.F., Khan, S. A., Aslam, A., Saeed, K., Khan, A and Shah, M.S., “Effect of experimental yolk sac infection with *Staphylococcus aureus* on immune status of broilers”. *Pakistan veterinary journal*, (2003), 23 (2).
  169. Khalil, S.A and Einas, E.S., “Aerobic Bacteria Associated with omphalitis chicks”, *Journal of veterinary Science* ,V.37, N°1, (2005), 69-77.
  170. Carter, G.R., Wise, D., “Essentials of veterinary bacteriology and mycology”; sixth Edition ; (2004), 149-150.
  171. Biscgaard, M., “Isolation and characterization of some previously unreported taxa from poultry with phenotypical characters related to *actinobacillus*- and *pasteurella* species”. *Chemin Acta. Microbiol.Immol. Scand. Sect. B*, 90, (1982), 59-67.
  172. Scharmann, W., Heller, A., “Survival and transmissibility of *Pasteurella pneumotropica*”, *Lab Anim.* (2001), 35(2):163-166.
  173. Glisson, J. R., "Bacterial respiratory disease of poultry." *Poultry Science* 77(8), (1998), 1139-1142. Dans la revue « Association vétérinaire des industries de

volaille» au canada.

174. Curtis, P.E., Ollerhead, G.E., Ellis, C.E., "Pasteurella multocida infection of poultry farm rats". Veterinary record 107, (1980), 326-327.
175. Carlton, L.G., Prescott, J. F., Songer, G., Charles, O.T., "Pathogenesis of bacterial infections in animals". Fourth Edition: Wiley Blackwell, (2010), 55-56.
176. Koort, J., Coenye, T., Vandamme, P., Björkroth, J., "Streptococcus parauberis associated with modified atmosphere packaged broiler meat products and air samples from a poultry meat processing plant". Int J Food Microbiol. (2006), 106 (3): 318-323.
177. ECDC : Centre européen de prévention et contrôle des maladies, Stockholm, Suède., "Rapport épidémiologique Annuel -Rapports Sur Les Données de 2009 et 2,010 surveillance épidémique, Rapport Epidémiologique Annuel Sur Les maladies transmissibles en l'Europe". (2011).
178. Alaboudi, A.R., Hamed, D.A., Basher, H.A., and Hassen, M.G., "Potentiel pathogenic bacteria from dead-in-dhell chicken embryos." Iraqi journal of veterinary science, (1992), 109-114.
179. Davis, J., "Another cause of yolk sac infections". Georgia Poultry Laboratory Network (GPLN), (2011).
180. Sander, J.E., Willingham, E.M.B., Jeanna, L., Wilson, B and Stephan. G. Thayer A., "The Effect of Inoculating *Enterococcus faecalis* into the Yolk Sac on Chick Quality and Maternal Antibody Absorption". Avian Diseases. (1998), 42(2):359-363.
181. Sandhu, T.S., "Fecal streptococcal infection of commercial white pekin ducklings". Avian diseases, (1988), 32, 570-573.
182. Terregino, C., Catelli, E., Zanoni, R., Giordano, S., Sanguinetti, V., "Causes of early broiler chick mortality". Journal Rivista di Avicoltura, V. 69, N°4, (2000), 34-40.
183. Chadfield, M.S., Christensen, J. P., Christensen, H. and Bisgaard, M., "Characterization of *streptococci* and *enterococci* associated with septicaemia in broiler parents with a high prevalence of endocarditis". Avian Pathology, (2011), 610-617.
184. Facklam, R.R., Elliott, J.A., "Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, Gram-positive cocci, excluding the *Streptococci* and *Enterococci*". Clinical Microbiology Review, (1995); 4:479–495.

185. Sandine, W.E., Radich, P.C., Elliker, P.R., "Ecology of the lactic *streptococci*". A review. *Journal of Milk Food Technology*, (1972), 3: 176–185.
186. Antolin, J., Ciguenza, R., Saluena, I., Vazquez, E., Hernandez, J. and Espinos, D., "Liver Abscess Caused by *Lactococcus lactis cremoris*: A new Pathogen", *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. (2004); 36(6-7):490-491.
187. Goyache, J., Vela, A.I ., Gibello, A., Blanco, M.M, Briones, V., Gonzalez, S., "*Lactococcus lactis subsp. lactis* Infection in waterfowl: first confirmation in animals". *Emerging Infectious Diseases* (2001); 7:884–888.
188. Mofredj, A., Bahloul, H., Chanut, C., "*Lactococcus lactis* : un pathogène opportuniste ? *Lactococcus lactis*: an opportunistic bacterium? *Med Mal Infect.* (2007), 37(4):200-207.
189. Martin, V., Vela, A. I., Gilbert, M., Cebolla, J., Goyache, J., Dominguez, L., and Fernandez-Garayza´bal , J.F., "Characterization of *Aerococcus viridans* Isolates from Swine Clinical Specimens", *Journal of clinical microbiology*, (2007), 45(9), 3053–3057.
190. Xiaowen, Jiang., Shoukang, Yang., and Guoliang, Sun., "Odontogenic Infection Due to *Aerococcus viridians*", A Case Report in review *Oral Maxillofacial Surgery*,(2013), 71(9):1552-1554.
191. Turtura, G. C. et Lorenzelli, P., "Gram-positive cocci isolated from slaughtered poultry", in *microbiological research*, 149(2), (1994), 203-213.
192. Sundsfford, A., Simonsen, G.S et Courvalin, P., "Human infections caused by glycopeptides resistant *Enterococcus spp*: are they zoonosis?". *Clinical Microbiology Infection*. (2001), 4:16-33.
193. Seelinger, H.P.R and Jones, D., "Genus *Listeria*. In: *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, 2nd Edition. Antibiotic Resistant Environmental Isolates of *Listeria monocytogenes* from Anthropogenic Lakes in Lokpa-Ukwu, Abia State of Nigeria."(1986).
194. Cooper, G., Charlton, B., "Listeriosis in California broiler chickens". *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, (1992), 4: 343-345.
195. vijayakrishna, S., Reddy, T.V., Varalakshma, K et Subramanyam, K.V., "Listeriosis in broiler chicken", *Indian veterinary journal*, (2000), 77: 285-286.
196. Swayn, D et al., "diseases of poultry", 13th édition, 2013, Wiley- Black Well edition, (2013), 49,751-756.

197. Hussu, J.R., Beery, J.T., Nurmi, E., and Doyle, M.P., "Fate of *Listeria monocytogenes* in orally dosed chicks" ., International Journal of Food Microbiology, 11 (1990), 259-270.
198. COX, N.A., BAILEY, J.S., and BERRANG, M.E., "The presence of *Listeria monocytogenes* in the integrated poultry industry". Applied Poultry Science.J.Appl.Poultry.Res.6, (1997), 116-119.
199. Kämpfer, P., Buczolits, S., Albrecht, A., Busse, H.J., Stackebrandt, E., "Towards a standardized format for the description of a novel species (of an established genus): *Ochrobactrum gallinifaecis* spp". International Journal of Systematic Evolutionary. Microbiology ., 53 (2003), pp. 893–896.
200. Kämpfer, P., Huber, B., Busse, H.J., Scholz, H.C., Tomaso, H., Hotzel, H., Melzer, F., "*Ochrobactrum pecoris* sp. nov., isolated from farm animals". International Journal of Systematic Evolutionary. Microbiology. (Sep; 61 (Pt 9), (2010), 2278-83.
201. Velasco, J., Romero, C., López-Goñi, I., Leiva, J., Díaz, R., Moriyón, I., "Evaluation of the relatedness of *Brucella* spp and *Ochrobactrum anthropi* and description of *Ochrobactrum intermedium* sp nov., a new species with a closer relationship to *Brucella* spp." International Journal of Systematic Bacteriology ., 48,(1998) ,759-768.
202. El Adawy, H ., Hotzel, H ., Tomaso, H., Neubauer, H ., Hafez ,M.H ., "Isolation and characterization of *Ochrobactrum anthropi* and *Ochrobactrum pecoris* from caecal content of commercial turkeys". Veterinary microbiology Volume 155, (2012), 349–354.
203. Kang, Y.J et Frank, J.F., "Biological aerosols: a review of airborne contamination and its measurement in dairy processing plants". J. Food. Prot. (1989) 52: 512-524.
204. Wathes, C. M., Johnson, H., E et Carpenter, G. A., "Air hygiene in a pullet house: effects of air filtration on aerial pollutants measured in Vivo and in vitro". British Poultry Science. 32(1). (Mar 1991), 31 – 46.
205. Northcutt, J.K., Jones, D.R et Musgrove, M.T., "Airborne Microorganisms during the Commercial Production and Processing of Japanese Quail", International Journal of Poultry Science 3 (4), (1989), 242-247.
206. Handley, B.A., Webster, A.J., "Some factors affecting airborne survival of *Pseudomonas fluorescens* indoors". Journal of Applied Bacteriology. (1993), 75: 35–42.

207. Handley, B.A., Webster, A.J., "Some factors affecting the airborne survival of bacteria outdoors". *Journal of Applied Bacteriology*. 79, (1995), 368–378.
208. Marin, C., Balasch, S., Vega, S., Lainez, M., "Sources of *Salmonella* contamination during broiler production in Eastern Spain". *Preventive Veterinary Medicine*. V. 98, (2011),39–45.
209. Al-khalaf, A.N., Akeila, M.A., Al-Dubaib, M.A., Azzam, A.H., El-Shafey, A.A., and Draz, A.A., "Bacterial Contamination of Hatcheries": *Journal of Agricultural and Veterinary Sciences*, V.2, N°2, (2010),67-76.
210. COX, N. A., BAILEY, J. S., and Berrang, M. E., "Diminishing incidence and level of *salmonella* in commercial broiler hatcheries". *Journal of Applied Poultry Research*, (1997), (6), 90-93.
211. Yagani, M., Nilipour, A et Butcher, G. D., "Disease outbreaks often caused by humans", *World poultry*, V. 20, N°10, (2004), 54 – 55.
212. Butcher, G.D et Miles, R. D., "Disease Prevention in Commercial Aviaries", p 1 – 6, Document publié par: Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. May (2003).
213. Rodgers, J.D., McCullagha, J.J., McNameeb, P.T., Smythc, J.A., Hywel, J. B., "Comparison of *Staphylococcus aureus* recovered from personnel in a poultry hatchery and in broiler parent farms with those isolated from skeletal disease in broilers", *Veterinary Microbiology* 69 (1999), 189-198.
214. Fontaine, M et Cadore, J.L., "Désinfection des locaux". *VADE-MECUM de Veterinaire* 16e édition, Edition : VIGOT,(1995),753-775.
215. Schwarz, S., and Chaslus-Dancla, E., "Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance". *Veterinary Research*, (2001), 32:201-225.
216. Aarestrup, F.M., " Association entre la consommation d'agents antimicrobiens dans la production animale et l'apparition de bactéries résistantes chez les animaux", *Antimicrobial Agents*, (1999) ; 12: 279 – 285.
217. Alcaine, S.D., Molla, L., Nugen, SR, Kruse, H., "Results of a pilot antibiotic resistance survey of Albanian poultry farms", *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, Available online (30 November 2015).
218. Osterblad, M., Hakanen, A., Manninen, R., Leistevuo, T., Peltonen, R., Meurman, O., Huovinen, P and Kotilainen, P., "A between-species comparison of antimicrobial resistance in enterobacteria in fecal flora". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*

- 44, (2000), 1479-1484.
219. Smith, J.L., Drum, D.J.V., Dai, Y., Kim, J.M, Sanchez, S., Maurer, J.J., Hofacre, C.L and Lee, M.D. "Impact of Antimicrobial Usage on Antimicrobial Resistance in Commensal *Escherichia coli* Strains Colonizing Broiler Chickens", Applied and Environmental Microbiology 73, (2007), 1404–1414.
  220. Schjørring, S., Krogfeldt, K.A., "Assessment of bacterial antibiotic resistance transfer in the gut". International Journal of Microbiology (2011): 31, 29-56.
  221. Lukasova et sustackova. "*Enterococci* and antibiotic resistance", Acta.vet Berno,(2003),72: 315:323.
  222. Apata, D.F., "Antibiotic resistance in poultry", international journal of poultry science 8(4) (2009), 404-408.
  223. Paterson, D.L., Pittsburgh, Pennsylvania. "Resistance in gram-negative bacteria: *Enterobacteriaceae*". American Journal of Infection Control. (2006 June); 34 (5 Suppl 1):S20-8.
  224. Warren, R. E., Ensor, V. M., O'Neill, P., Butler, V., Taylor, J., Nye, K., Harvey, M., Livermore, D. M., Woodford, N., and Hawkey, P. M., "Imported chicken meat as a potential source of quinolone-resistant *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases in the UK". Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2008). 61:504-508.
  225. Overdeest, Ilse., Willemsen, I., Rijnsburger, M., Eustace, A., Xu, L., Hawkey, M. P., Heck, M., Savelkoul, P., Vandenbroucke-Grauls, C., van der Zwaluw, Kim., Huijsdens, X., et Kluytmans, J., "Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase Genes of *Escherichia coli* in Chicken Meat and Humans, the Netherlands": (2011) [http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/7/11-0209\\_article](http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/7/11-0209_article).
  226. Voets, G.M., Fluit, Ad. C., Scharringa, J., Schapendonk, C., Munckhof, T., van den, Maurine A., Leverstein-van, H., Cohen, JS ., "Identical plasmid AmpC beta-lactamase genes and plasmid types in *E coli* isolates from patients and poultry meat in the Netherlands". International Journal of Food Microbiology. (2013), 359-362.
  227. Campos, C.B., Fenner, I., Wiese, N., Lensing, C., Christner, M., Rohde, H., Aepfelbacher, M., Fenner, T., Hentschke, M., "Prevalence and genotypes of extended spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae isolated from human stool and chicken meat in Hamburg, Germany". International Journal of Medical Microbiology: V. 304, (2014), 678–684.

228. Dierikx, C., van Essen-Zandbergen, A., Veldman, K., Smith, H., Mevius, D., “La détection accrue des bêta-lactamases à spectre étendu produites par *Salmonella enterica* et d'*Escherichia coli* isolats de volaille”. *Vétérinaire Microbiology.*, 145 (2010), 273-278.
229. Mataseje, L.F., Baudry, P.J., Zhanel, G.G, Morck, D.W., Lire, R.R., Louie, M., Mulvey, M., “Comparaison des CMJ-2 plasmides isolés d'*Escherichia coli* et *Salmonella* spp. à partir d'humains, des animaux, et de l'environnement au Canada”. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases.* (2010 August); 67(4):387-391.
230. Zhanel, G.G., Wiebe, R., Dilay, L., Thomson, K., Rubinstein, E., Hoban, D.J., Noreddin, A.M., Karlowsky, J.A., “Examen comparatif des carbapénèmes”. *Médicaments*, 67 (2007) ,1027-1052.
231. Nordmann, P., Dortet, L., Poirel, L., “La résistance des *entérobactéries* aux carbapénèmes” : *Trends Mol. Med.*, 18 (2012), 263-272.
232. Canton, R., Akova, M., Carmeli, Y., “Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe”. *Clinical microbiology and infection*; (2012); 18:413-431.
233. woodford, N., Wareham, D.W., Guerra, B et Teale, C., “Carbapenemase – producing *Enterobacteriaceae* and non *enterobacteriaceae* from animals and the environment: an emerging public health risk of own making?”, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*;(2014); 69: 287-291.
234. Guerra, B., Fischer, J., Helmuth, R., “An emerging public health problem: acquired carbapenemase-producing microorganisms are present in food-producing animals, their environment, companion animals and wild birds”. *Veterinary Microbiology.* (2014 July), 171(3-4):290-297.
235. Fischer, J., Rodriguez, I., Schmöger, S., et al., “*Salmonella enterica subsp. enterica* producing VIM-1 carbapenemase isolated from livestock farms”. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2013); 68:478-80.
236. Ewers, C., Bethe, A., Semmler, T., Guenther, S., et Wieler, LH ., “Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective”: *Clinical Microbiology and Infection* V.18, Issue 7,(July 2012),646–655.



237. Agabou, A., Lezzar, N., Ouchenane, Z., Khemissi, S., Satta, D., Sotto, A., Lavigne, J.P., Pantel, A., “Clonal relationship between human and avian ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* isolates in North-Eastern Algeria”, *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases*, (2015).
238. Kim, E.S., Hooper, D.C., “Importance clinique et épidémiologique de la résistance aux quinolones”, *Journal of Infection and Chemotherapy*, 46 (2014), 226-238.
239. FAO / OMS / OIE., “OMS / réunion d'experts de l'OIE sur les antimicrobiens d'importance critique FAO /. Rapport d'une réunion tenue à la FAO, Rome, Italie, 26-30 Novembre 2007. FAO, Rome, Italie, et de l'OMS, Genève, Suisse”, (2008).
240. Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) ; 2008., “Avis du groupe scientifique sur les risques biologiques sur une demande de l'Autorité européenne de sécurité des aliments sur la résistance aux antimicrobiens d'origine alimentaire comme un danger biologique”. *J. EFSA*, 765 (2008), pp. 1-87.
241. Bazile-pham-khac, S., Truong, Q. C., Lafont, J.P., Gutmann, L., ZHOU X.Y., OSMAN, M., and MOREAU, N.J., “Resistance to Fluoroquinolones in *Escherichia coli* Isolated from Poultry”, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, (June 1996), 1504–1507, American Society for Microbiology.
242. Lee, Y.J., Cho, J.K., Kim, K.S., Tak, R.B., Kim, A.R., Kim, J.W., Im, S.K., Kim, B.H., “Fluoroquinolone resistance and gyrA and par mutations of *Escherichia coli* isolated from chicken”. *Journal of Microbiology*, (2005), 43:391–397.
243. Johnson, JR., Murray, AC., Gajewski, A., Sullivan, M., Snippes, P., Kuskowski, MA., Smith, KE., “Isolation and molecular characterization of nalidixic acid-resistant extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* from retail chicken products”. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47, (2003), 2161–2168.
244. Börjesson, S., Guillard, T., Landén, A., Bengtssona, B., Nilsson, O., “Introduction of quinolone resistant *Escherichia coli* to Swedish broiler population by imported breeding animals”: *Veterinary Microbiology*. (2015), November 12. pii: S0378-1135(15)30076-6.
245. Nordmann, P et Poirel, L., “Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in *Enterobacteriaceae*”: *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2005) 56, 463–469.
246. Szmolkaa, A., Anjum, M.F., La Ragione, M.R., Kaszanyitzky, É.J., Nagy, Béla., “Microarray based comparative genotyping of gentamicin resistant *Escherichia coli*

- strains from food animals and humans”, *Veterinary microbiology* :V. 156, Issues 1–2, 23, ( April 2012), 110–118.
247. Luangtongkum, T., Morishita, T.Y., Ison, A.J., Huang, S., McDermott, P.F., Zhang, o., “Effect of conventional and organic production practices on the prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter spp.* in poultry”. *Applied Environmental Microbiology*, 72:3600, (2006).
  248. Price, LB., Graham, J.P., Lackey, L.G., Roess, A., Vailes, R., “Elevated Risk of Carrying Gentamicin-Resistant *Escherichia Coli* among U.S. Poultry Workers”. *Environmental Health Perspectives*, V.115, N°12 (Dec ., 2007), 1738-1742.
  249. Levy, S.B., Fitz Gerald, G.B, et Macone, B., “Changes in intestinal flora of farm personnel after introduction of a tetracycline supplemented feed on a farm”: v. 295 N°11, (2015).
  250. Smith, J.L., Drum, D.J.V., Dai, Y., Kim, J.M., Sanchez, S., Maurer, J.J., Hofacre, C.L and Lee, M.D., “Impact of Antimicrobial Usage on Antimicrobial Resistance in Commensal *Escherichia coli* Strains Colonizing Broiler Chickens”. *Applied Environ Microbiology* 73: (2007), 1404–1414.
  251. Kempf, I., Fleurya, M.A., Drider, D., Bruneaud, M., Sanders, P., Chauvina, C., Madec, J.Y., Jouya, E., “What do we know about resistance to colistin in *Enterobacteriaceae* in avian and pig production in Europe? ”, *International journal of antimicrobial agents: journal* (2013): <http://www.elsevier.com/locate/ijantimicag>.
  252. Devriese, L.A., Hommez, J., Wijfels, R. and Haesebrouck, F., “Composition of the *enterococcal* and *streptococcal* intestinal flora of poultry”: *Journal of Applied Bacteriology* (1991), (71), 46-50.
  253. Johnson, A. P., Uttley, A. H. C., Woodford, N., and George, R. C., “Resistance to vancomycin and teicoplanin: an emerging clinical problem”. *Clinical Microbiology Review*. (1990), 3:280-291.
  254. aarestrup, F.M., “Occurrence of Glycopeptide Resistance among *Enterococcus faecium* Isolates from Conventional and Ecological Poultry Farms”, *Microbial drug resistance* V.1, N°3,( 1996).
  255. Mofredj, A., Bahloul, H., Chanut, C., “*Lactococcus lactis* : un pathogène opportuniste ? *Lactococcus lactis*: an opportunistic bacterium?” *Medicine et Maladies Infectieuses*. (Apr 2007); 37(4):200-207.
  256. Van den, Braak ., Van, Belkum, N., Van Keulen, A., Vliegen-thart, M., Verbrugh, J.,

- H.A. et ENDTZ, H.P., "Molecular characterization of vancomycin-resistant enterococci from hospitalized patients and poultry products in the Netherlands". *Journal of clinical microbiology*, (1998), 36, 1927-1932.
257. Tanner, A.C., "Antimicrobial drug use in poultry, p. 637–655. In J. F. Prescott, J. D. Baggot, and R. D. Walker (édition) ., "Antimicrobial therapy in veterinary medicine". Iowa State University Press, Ames, IA, (2000).
258. Aarestrup, F .M ., Agersù, Y., Ahrens, P., éstergaard Jùrgensen, J.C., Madsen, M., Jensen, L.B., "Antimicrobial susceptibility and presence of resistance genes in *staphylococci* from poultry". *Veterinary Microbiology*, 74 (2000): 353-364.
259. White, D.G., Ayers, S., Maurer, J.J., Thayer, S.G et Hofacre, C., "Antimicrobial susceptibilities of *Staphylococcus aureus* isolated from commercial broilers in northeastern Georgia". *Avian Diseases*; 47(1), (Jan-Mar 2003), 203 – 210.
260. Nemati, M., Hermans, K., Lipinska, U., Denis, O., Deplano, A., Struelens, M, Devriese, L. A., Pasmans, F., and Haesebrouck, F., "Antimicrobial Resistance of Old and Recent *Staphylococcus aureus* Isolates from Poultry: First Detection of Livestock-Associated Methicillin-Resistant Strain ST398". *Antimicrobial agents and chemotherapy*, V. 52, N°10, (2008), 3817–3819.
261. Persoons, D., Van Hoorebeke, S., Hermans, K., Butaye, P., Kruif, A.d., Haesebrouck, F., and Dewulf, J., "Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Poultry". *Emerging Infectious Diseases*; 15 (3), (2009), 452-453.
262. Lee, J.H., "Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from cattle and chicken, and analyses of their *mecA*, *mecR1* and *mecl* genes. *Veterinary Microbiology*,( 2006),;114:155–159.
263. Kitai, S., Shimizu, A., Kawano, J., Sato, E., Nakano, C., Uji, T., et al., "Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan". *Journal of Veterinary Medicine Science* (2005); 67:107–10 10.1292/jvms.67.107.
264. Kelley, T.R., Pancorbo, O.C., MERKA,W. C., and Barnhart, H. M., "Antibiotic Resistance of Bacterial Litter Isolates", *Poultry Science*, (1998) ,77:243–247.
265. Mérens, A., Delacour, H., Plésiat, P., Cavallo, J.D., Jeannot, K., "*Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques". *Revue Francophone des Laboratoires*. (2011), Issue 435, 49–62.
266. Decré, D., "*Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques: Un modèle

- d'adaptation". *Revue Francophone des Laboratoires* V. 2012, Issue 441, (April 2012), 43–52.
267. Russell, S.M., Fletcher, D.L., Cox, N.A., "Spoilage bacteria of fresh broiler chicken carcasses". *Poultry Science*. (1995) 74(12): 2041-2047.
  268. Huang, T.M., Lin, T.I., et Ching Ching, Wu., "Antimicrobial Susceptibility and Resistance of Chicken *Escherichia Coli*, *Salmonella* spp., and *Pasteurella Multocida* Isolates". *Journal Avian diseases*, (2009 Mar),53(1): 89-93.
  269. Sung, S.J., Euiyoung, C., Kiseon, H., Takahisa, M., Sunggi, H., Sangryeol, R., "Antibiotic resistance and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from chicken carcasses in Korea". *Journal of microbiology and biotechnology*, 16(8), (2006), 1276-1284.
  270. Mayrhofer, S., Paulsen, P., Smulders, F.J.M., Hilbert, F., "Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry". *International Journal of Food Microbiology* 97 (2004), 23 – 29.
  271. Duffy, G ., "Verocytotoxicogenic *Escherichia coli* in animal faeces, manures and slurries. *Journal of Applied Microbiology*, (2003) 94:94–103.
  272. Jakobsen, L., Kurbasic, A., Skjøt-Rasmussen, L., Ejrnaes, K., Porsbo, L.J., Pedersen, K., Jensen, L.B., Emborg, H.D., Agersø, Y., Olsen, K.E., Aarestrup, F.M., Frimodt-Møller, N., Hammerum, A.M., "*Escherichia coli* isolates from broiler chicken meat, broiler chickens, pork, and pigs share phylogroups and antimicrobial resistance with community-dwelling humans and patients with urinary tract infection". *Foodborne Pathogens Diseases* (2010), 7:537–547.
  273. Price, L.B., Graham, J.P., Lackey, L.G., Roess, A., Vailes, R., Silbergeld, E., "Elevated risk of carrying gentamicin-resistant *Escherichia coli* among U.S. poultry workers". *Environ Health Perspect* (2007) 115: 1738–1742.
  274. Petersen, A., Christensen, J.P., Kuhnert, P., Bisgaard, M., Olsen, J.E., "Vertical transmission of a fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* within an integrated broiler operation", *Veterinary Microbiology* 116 (2006) 120–128.
  275. Miles, T.D., McLaughlin, W., Brown, P.D., "Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from broiler chickens and humans". (2006) *BMC Vet Res* 2:7.
  276. Ingram, P.R., Rogers, B.A., Sidjabat, H.E., Gibson, J.S., and Inglis, T.J.J., "Co-selection may explain high rates of ciprofloxacin non-susceptible *Escherichia coli* from retail poultry reared without prior fluoroquinolone exposure". *Journal of*

- Medical Microbiology (2013), 62, 1743–1746.
277. Oppegaard, H., Steinum, T.M and Wasteson, Y., “Horizontal transfer of a multi-drug resistant plasmid between coliform bacteria of human and bovine origin in a farm environment”. *Applied Environmental Microbiology*, (2001), 67: 3732-3734.
  278. Nandi, S., Maurer, J., Hofacre, C and Summers, A.O., “Gram-positive bacteria are a major reservoir of Class 1 antibiotic resistance integrons in poultry litter”. *PNAS*, (2004) 101: 7118-7122.
  279. Dhanarani, T.S., Shankar, C., Park, J., Dexilin, M., Kumar, RR and Thamaraiselvi, K., “Study on acquisition of bacterial antibiotic resistance determinants in poultry litter”. *Poultry Science* (2009), 88: 1381-1387.
  280. Crippen, T.L and Poole, T.L., “Conjugative transfer of plasmid-located antibiotic resistance genes within the gastrointestinal tract of lesser mealworm larvae, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae)”. *Foodborne Pathogens and Diseases* V.6, (2009), 907-915.
  281. Lautenbach, E., Fishman, NO., Metlay, J.P., Mao, X., Bilker, W.B., Tolomeo, P., Nachamkin, I., “Phenotypic and genotypic characterization of fecal *Escherichia coli* isolates with decreased susceptibility to fluoroquinolones: results from a large hospital-based surveillance initiative”. *Journal Infectious Diseases*, (2006), 194:79-85.
  282. Thorsteinsdottir, T.R., Haraldsson, G., Fridriksdottir, V., Kristinsson, K.G., and Gunnarsson, E., “Prevalence and Genetic Relatedness of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli* Isolated From Animals, Foods and Humans in Iceland”, *Zoonoses and Public Health*, 57 (2010), 189–196.
  283. Schmiedel, J., Falgenhauer, L., Domann, E., Bauerfeind, R., Prenger-Berninghoff, E., Imirzalioglu, C., Chakraborty, T., “Multiresistant extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae from humans, Companion animals and horses in central Hesse”, Germany. *BMC Microbiol* (2014) 12; 14:187. Doi: 10.1186/1471-2180-14-187.
  284. Steinberg, J., Burd, E., “Other Gram-negative and Gram-Variable Bacilli. Principles and practice of infectious diseases”. (7th Ed.)Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia (2010), 3024.
  285. Zurek, L., Ghosha, A., “Insects represent a link between food animal farms and the urban environment for antibiotic resistance traits”. *Applied Environmental Microbiology*, N80, (2014), 3562-3567.