.REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE UNIVERSITÉ CONSTANTINE 1 INSTITUT DES SCIENCES VÉTÉRINAIRES

تقييم درجة المقاومة المكتسبة بواسطة السالالت من Escherichia Coli في مزرعة دواجن في منطقة قسنطينة

Réf…14/vété/2022 14/PGS/2022

PROFIL DE RÉSISTANCE DE E COLI CHEZ LE POULET DE CHAIR DANS LA RÉGION DE CONSTANTINE

Mémoire pour l'obtention du diplôme de post-graduation spécialisée

Spécialité : aviculture et pathologie aviaire

Option : pathologie aviaire

soutenu le 14/7/2022

Réalisé par : Ait kaki Yasmine

Encadreur : Dr. Lezzar.N

Jury

Président : Pr.Mekroud A.S

Membres : Agabou.A

Remerciements.

Mes remerciements les plus sincères à Madame le Docteur Lezzar Nawal qui a pris de son temps précieux pour diriger ce mémoire, vos conseils m'ont beaucoup aidé dans l'aboutissement de ce travail. Vos compétences professionnelles, votre sérieux et votre gentillesse sont un exemple pour tous vos étudiants.

A tous mes maîtres, Mesdames et Messieurs les Professeurs de L'Institut des Sciences Vétérinaires,

Aux Professeurs, de notre jury de soutenance,

A toute l'équipe de CEVA santé animale Algérie

A tous les intervenants de la poste graduation spécialisée.

Résumé

L’objectif de notre étude est d’évaluer le degré de résistance acquise par des souches d’Escherichia Coli dans un élevage aviaire au niveau de la région de Constantine.

100 échantillons de fiente ont été prélevés de façon aléatoire chez des poulets de chair traités par des antibiotiques.

Les résultats de l’antibiogramme montrent que ces souches d’Escherichia Coli ont

développés une résistance des antibiotiques habituellement utilisés, cyclines, quinolones, amoxicilline, sulfaméthoxasole-triméthoprime.

Mots clés : poulet de chair, Escherichia Coli, antibiotique, antibiogramme, résistance.

ملخص
الهدف من دراستنا هو تقييم درجة المقاومة المكتسبة بواسطة السالالت
من Escherichia Coli في مزرعة دواجن في منطقة قسنطينة.
تم أخذ 100 عينة من الفضالت بشكل عشوائي من دجاج التسمين
عولجت بالمضادات الحيوية.
تظهر نتائج المضادات الحيوية أن هذه السالالت من
اإلشريكية القولونية لديها
طورت مقاومة للمضادات الحيوية شائعة االستخدام ، واألعاصير ، والكينولونات ، أموكسيسيلين ، سلفاميثوكساسول-تريميثوبريم.
الكلمات المفتاحية: دجاج التسمين ، Escherichia Coli ، مضاد حيوي ، مضاد حيوي ، مقاومة.

summary

The objective of our study is to assess the degree of resistance acquired by strains
of Escherichia Coli in a poultry farm in the Constantine region.
100 samples of droppings were taken at random from broilers
treated with antibiotics.
Antibiotic results show that these strains of Escherichia Coli have
developed resistance to commonly used antibiotics, cyclins, quinolones,
amoxicillin, sulfamethoxasole-trimethoprim.
Key words: broiler, Escherichia Coli, antibiotic, antibiogram, resistance.

Liste des tableaux et figures

Figure 1 :E.coli au microscope électronique…….2

Figure 2 : structure delaparoi……3

Tableau 1 : caractères biochimiques…….3

Tableau 2 :classification……4

Tableau 3 :diagnostic différentiel de la Colibacillose…… 16

Tableau4 :famille et spectre d'activité des ATB testés……... 20

Figure 5 :CMI en milieu liquide……34

Figure 6 :CMI par diffusion des disques……35

Figure 7 : CMI par E.test……. 35

Partie pratique

Figure 1 : élevage poulet…… 41.

Figure 2 : écouvillon cloacal…… 41

Figure 3 : TSI-urée indole……..42

Figure 4 : citrate de Simmons……42

Figure 5 : gélose nutritive……43

Figure 6 galerie biochimiquetémoin……..43

Figure 7 : galerie biochimique E.coli…….44

Figure 8 : galerie biochimique ENTEROBACTERIES LAC-…… 44

Figure 9 : galerie biochimique ENTEROBACTERIES LAC+… 44

Figure 10 :colonie lac+ Hektoen……. 44

Figure 11 : colonie h_2s + Hektoen…… 45

Figure 12 :galerie api…….45

Figure 13 :densitomètre Mac Farland……..46

Tableau 1 : liste des antibiotiques testés……46

Figure 14 :mesure du diamètre d'inhibition…… ..47

Figure 15 : antibiogramme j_5 47

Figure 16 : antibiogramme j_{17} …….47

Figure 17 : répartition des souchesisolées ……..48

Tableau 2 : phénotypes de E.coli…….49

Tableau 3 : répartition des souches d'E.coli (histogramme)……52

Tableau 4 : répartition de E.coli selon la sensibilité et résistance… 52

Sommaire

INTRODUCTION 1

1 Première partie : caractéristiques générales d'E. Coli 6

1.1 Caractéristique d'E.coli : 0

1.1.1 Généralités : 0

1.1.2 Caractères morphologiques : 0

1.1.3 Structure : 0

1.1.4 Caractères biochimiques et classification 1

1. Caractères biochimiques 1

2. Classification : 2

1.1.5 Caractères culturaux : 2

1.1.6 Structure antigénique 2

· *Antigènes somatiques O :* 3

· *Antigènes de surface ou d'enveloppe K :* 3

1.2 Le pouvoir pathogène : 4

· *Les adhésines ou fimbriaes* : 4

Fimbriae de types 1 : 5

✔ *Fimbriaes de type 2 (types P)*: 5

✔ *La résistance au sérum*: 5

✔ *L'aérobactine*: 5

✔ *Les toxines :* 6

✔ L'antigène K1 (ou la capsule) : 6

✔ *Le curli :* 6

✔ *L`hémagglutination*: 6

1.3 La colibacillose aviaire 6

1.3.1 Forme localisée 6

✔ L'omphalite 6

1.3.2 La cellulite 7

1.3.3 Le syndrome de tête enflée 7

1.3.4 Maladie diarrhéique 7

1.3.5 Coligranulomatose 7

Colibacillose vénérienne 7

1.3.6 Salpingite et salpingopéritonite 8

✔ Une mortalité sporadique; 8

✓ Des symptômes respiratoires (selon l'origine primaire de l'infection)8

✔ A l'autopsie, les lésions suivantes sont observées : 8

Une masse ferme d'un exsudat caséeux dans l'oviducte 8

Une ovarite allant jusqu'à la ponte intra-abdominale 8

1.3.7 Orchite et épididymite 8

1.3.8 Arthrites et synovites 8

1.3.9 Forme systémique 9

1.3.9.1 Colisepticémie 9

1.3.9.2 Septicémie hémorragique 10

1.3.9.3 Colisepticémie néonatale 10

1.3.9.4 Colisepticémie 10

1.3.9.5 Septicémie colibacillaire chez l'adulte 11

1.4 Diagnostic biologique des infections à E.Coli 11
1.4.1 Isolement et diagnostic : 11
1.5 Diagnostic différentiel : 13
1.6 Traitement : 13
1.7 Prévention : 14
2 Deuxième partie : les bactéries et les antibiotiques 16
2.2 Principes généraux de l'antibiothérapie 17
2.2.1 Objectifs de l'antibiothérapie 17
2.2.1.1 Activité de l'antibiotique : 17
2.2.1.2 Cible et Mode d'action des antibiotiques : 18
2.2.1.3 Effet indirecte des antibiotiques : 19
2.2.2 Mécanisme d'action des résistances aux antibiotiques : 21
2.2.2.1 Définition de la résistance : 21
Résistance intrinsèque : 21
Résistance acquises : 21
Phénotype de résistance ou antibiotype : 21
2.2.2.2 Mécanisme de résistance : 21
Diminution de la perméabilité membranaire : 21
Expulsion de l'antibiotique (efflux actif) 22
Inactivation enzymatique ou séquestration de l'antibiotique dans la bactérie 22
2.2.2.3 Modification des cibles de l'antibiotique 22

Voie métabolique nouvelle (tolérance) 23

2.2.2.4 Support génétiques de la résistance aux antibiotiques 23

Résistance acquise d'origine chromosomique : 23

Résistance acquise d'origine extra-chromosomique : plasmide et transposons 24

✔ Acquisition de plasmides : 24

✔ Acquisition de transposons 24

3 Troisièmes partie : de l'antibiothérapie à l'antibioresistance 25

3.1 Antibiotique et antibioresistance : 26

3.1.1 Définitions 27

3.1.1.1 L'Antibiotique : 27

3.1.1.2 L'antibiothérapie : 28

3.1.2 Usage des antibiotiques=Antibiothérapie 29

3.1.3 Consommation des antibiotiques : 29

3.2 RESISTANCE ET MULTIRESISTANCE 31

3.2.1 La Résistance bactérienne 31

3.2.2 La Multirésistance bactérienne (MRB) 31

3.2.3 Mesure de la résistance bactérienne 32

3.2.3.1 Méthode de mesure de la résistance bactérienne 32

3.2.3.2 Paramètres pharmacodynamiques 33

3.2.4 Mise en évidence de l'antibiorésistance (antibiogramme et techniques génétiques) 35

3.2.4.1 Utilisation d'antibiogrammes 35

3.2.4.2 Techniques génétiques 36

La résistance acquise

4 Référence Bibliographique revue bibliographique 38

PARTIE EXPERIMENTALE…..52…

Introduction..... 53

Objectif 53

Matériel et Méthodes…..53

Matériel……53..

Méthodes…..... 54

Résultats…..... 60

Discussion..... 64

Conclusion 65

Références bibliographiques partie expérimentale 66

Introduction

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

Le contrôle de la maladie se base sur une antibiothérapie. Comme nous le verrons, ces pratiques favorisent l'apparition de résistances bactériennes contre les antibiotiques utilisés, réduisant ainsi drastiquement les possibilités thérapeutiques pour lutter contre l'infection

Une première partie « généralité sur E. Coli »permettra de définir précisément les caractères généraux d'E. Coli ainsi que sa sensibilité aux antibiotiques et sa mise en évidence par des tests de diagnostic.

Une seconde partie « les bactérie et les antibiotiques » expliquera les principes généraux de l'antibiothérapie puis les mécanismes de résistances bactériennes.

Une troisième et dernière partie portera sur la « la résistance et la multi résistance bactérienne » ainsi que sa mise en évidence par des Test d'antibiogramme et technique génétique.

.

Première partie : caractéristiques générales d’E. Coli

1.1 Caractéristique d'E.coli :

1.1.1 Généralités :

Escherichia coli (E. coli) est une bactérie à Gram-négatif, sporulée, le plus souvent mobile(1). Elle est présente dans le tube digestif de la volaille et est généralement bénéfique. Elle contribue en effet au développement et à la croissance de l'oiseau. Mais sur un animal affaibli par une infection virale ou de mauvaises conditions environnementales, le colibacille profite d'une altération des défenses de l'hôte pour proliférer et devenir pathogène, entrainant des colibacilloses(2).

Appartient à la famille des Enterobacteriaceae, au genre Escherichia. Cette bactérie est caractérisée par les antigènes O (somatique), H (flagellaire), F (pilis) et K (capsulaire) qui permettent d'identifier plusieurs sérotypes. (1)

1.1.2 Caractères morphologiques :

E. coli est un bacille, de forme cylindrique (bâtonnets) ou cocobaciliaire, gram négatif uniformément coloré, non sporulé, de 2 µm à 3µm de Lang sur 0.7 µm de large, elle se présente soit seule ou groupée, le plus souvent par deux (diplobaciles), très rarement elles sont rencontrées en amas. Elles sont mobiles grâce à une ciliature péritriche, mais cette mobilité étant très réduite (1) (2)

Figure 01 : Escherichia coli sous microscope électronique a G X 1000 [5]

1.1.3 Structure :

Le lipopolysaccharide (LPS) est un composant majeur de la surface externe des bactéries Gram négatives. Le LPS est composé de trois entités synthétisées séparément

: le lipide A, le noyau et l'antigène O, qui seront, après, assemblées l'une à l'autre. Le lipide A, enchâssé dans la membrane externe, représente la partie proximale du LPS, le noyau, sa partie médiane, et l'antigène O, sa partie distale « libre » dans le milieu extérieur. Chez les entérobactéries, le lipide A est fortement conservé et le noyau est très peu variable tandis que l'antigène O est la région hypervariable. Plusieurs activités/rôles biologiques ont été associées au LPS, parmi Lesquelles l'activité endotoxinique portée par le lipide A et la spécificité antigénique de la souche bactérienne portée par l'antigène O. (1,2)

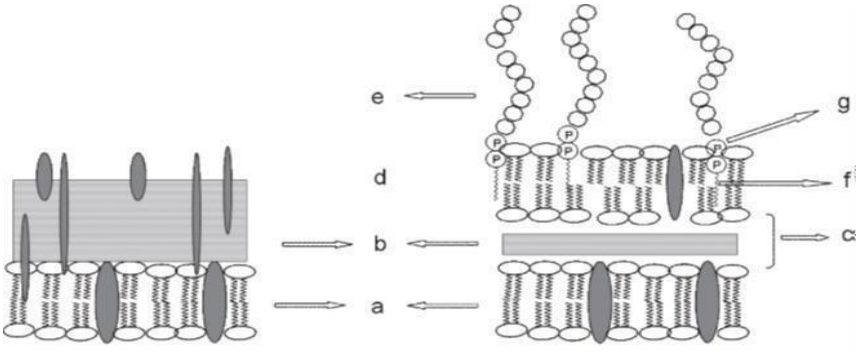


Figure 02 Structure de la paroi bactérienne

1.1.4 Caractères biochimiques et classification

1. Caractères biochimiques

E. coli possède une catalase mais elle est dépourvue d'oxydase. L'étude d'activités Enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces dernières permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille.(1,2,3,4,5)

Ces caractères sont regroupés dans le tableau suivant **:**

Test	GLU	LAC	H2S	GAZ	CS	ONPG	GEL	MAL	NIT	LDC	ODC	ADH	URE	TDA	IND	RM	vp	ESC
Résultat	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+ /	+ /	+ /	-	-	+	+	-	-

										-	-	-						

Tableau 01 : Les caractères biochimiques d'Escherichia coli.

2. Classification :

Règne	Bacteria
Embranchement	*Proteobacteria*
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Enter bactériales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	Escherichia
Espèce	Escherichia (E. coli)

Tableau 02 : La classification d'Escherichia coli selon le Bergey's manual 2012 *(10)*

1.1.5 Caractères culturaux :

E. coli pousse sur milieu ordinaire à 37°C, "température optimale de croissance ". En aérobiose et en anaérobiose incubées 24 h, la culture étant aussi possible entre 20°C et 40°C.

Le PH optimum est de 7.5. Les exigences nutritionnelles d'E. Coli sont en général réduites, une source de carbone suffit pour leur multiplication.

La gélose nutritive : 24h à 37°C, colonies ronds, lisses, a bords réguliers, légèrement bombés, translucides et de 1,5 mm de diamètre

Gélose semi-sélectives : Drygalski (colonies jaunes), Mc Conkey (colonies roses-rouges) et B-hémolyse sur milieu au sang. (1,2)

1.1.6 Structure antigénique

Les colibacilles sont classés selon les antigènes qu'ils portent**(1,2)**

- L'antigène somatique (antigène de paroi ou endotoxine) comporte 180 stéréotypes, dont 15 stéréotypes chez la volaille;
- L'antigène capsulaire (AgK), comporte 80 Ag (Antigène) différents;
- L'antigène flagellaire (AgH), comporte 60 Ag différents;
- De nombreuses souches non typées sont pathogènes pour les oiseaux.

Il est important de noter que la structure antigénique ne permet pas de déterminer avec certitude le pouvoir pathogène de la souche. Les souches O1, O2, 078 sont réputées pathogènes mais elles ne le sont pas toutes. Les combinaisons AgO et AgK donnent les sérotypes O1K1, O2K1, O78K80, parmi les plus anciennement reconnus pathogènes en aviculture**(2)** Le pouvoir pathogène des colibacilles est lié à leur capacité d'adhésion aux muqueuses respiratoires et digestives par des facteurs d'adhésion (les pilis) codés par un plasmide. Ces facteurs disparaissent lorsque la bactérie pénètre dans l'organisme car ces derniers favorisent la phagocytose

- *Antigènes somatiques O* **:**

  Il existe plus de 180 antigènes somatiques. Ils sont composés de lipopolysaccharide complexes. Actuellement, certains laboratoires d'analyses médicales utilisent l'agglutination avec des sérums pour déterminer le sérogroupe. Mais cette technique est limitée par le

  nombre de plus en plus élevé de sérums à fabriquer, par la présence d'agglutinations croisées d'antigènes O d'*E. Coli*, *Shigella* et ceux de *Salmonella*, et par le message de la consistance crémeuse de la colonie à une consistance rigoureuse ayant pour conséquence l'absence de synthèse de l'antigène O. Les gènes codants pour les enzymes impliquées dans la synthèse de l'antigène O sont regroupés dans le groupe de gènes rfb. Ce groupe rfb peut être amplifié spécifiquement grâce à un système d'amorces puis, après restriction par l'endonucléase MboIII, un profil noté « R » peut être obtenu par électrophorèse, correspondant à un sérogroupe d'*E. Coli*. (2,3,8)

- Antigènes flagellaires H

  Les antigènes H ne servent pas à l'identification des *E. coli* pathogènes mais présentent un

  grand intérêt du point de vue épidémiologique : l'identité de l'antigène H constitue un élément pour assurer qu'il s'agit d'une même souche.

  L'antigène H est codé par le gène fliC. Les parties N et C terminales de la flagelline sont très conservés et c'est la partie médiane, qui est plus variable, qui donne la spécificité de l'antigène H.

  Les *E. coli* immobiles possèdent également le gène fliC mais sont incapables de synthétiser un flagelle, après restriction et amplification du gène fliC il est possible de typer l'antigène H en comparant le profil obtenu à une base de données de profil-type. Par exemple, le profil fliC (noté F) aura un numéro F8, correspondant au type H8 obtenu avec le sérum. (3)

- *Antigènes de surface ou d'enveloppe K:*

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

- ✔ -L'antigène L**:** est le plus fréquent mais thermolabile (il est détruit en une demi-heure, à 100°C). Donc le chauffage provoque une perte de pouvoir antigénique, du pouvoir de fixer les anticorps et du pouvoir de masquer l'antigène O.
- ✔ L'antigène A: est rare ; c'est un antigène capsulaire (les *E. coli* encapsulés sont relativement fréquents dans les infections urinaires). L'Ag A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire).
- ✔ L'antigène B**:** est toujours présent chez les *E. coli* enteropathogènes de gastroentérite infantile. Il a une thermolabilité intermédiaire : après une demi-heure à 100°C, il reste toujours de l'antigène B mais l'antigène O peut entrer en contact avec le sérum par « trouage » de l'enveloppe. La fixation de l'anticorps est toujours positive mais le pouvoir antigénique se perd progressivement (en fonction de la durée de chauffage).

1.2 Le pouvoir pathogène :

Chez la volaille, les *E. coli* pathogènes sont appelés APEC (Avian Pathogenic E. coli pathogènes aviaires) par opposition aux souches commensales qui elles, sont désignées par AFEC (Avian Fécal E. coli fécaux aviaires). Les APEC font partie du grand groupe des E. coli pathogènes extra- intestinaux (Ex PEC) et sont, à ce titre désignés sous le vocable « Ex PEC aviaires » . Le pouvoir pathogène d`*E. coli* (APEC) est à déterminisme plurifactoriel.

Les mécanismes et les modalités d'action des souches pathogènes de colibacilles aviaires sont imparfaitement connus. C`est ainsi qu`il existe un certain nombre de facteurs de virulence qui sont associés au APEC [22]. Ces facteurs regroupent les adhésines ou fimbriaes (impliquées dans l'adhérence des bactéries au tractus respiratoire), la résistance à l'activité bactéricide du complément ou résistance au sérum (nécessaire à la survie des bactéries dans le sang), les systèmes de captation du fer (aérobactine) (utiles à la multiplication des bactéries dans le sang), les toxines, l'antigène K, le curli et le système hémagglutinant.(2,3,7,12)

- ***Les adhésines ou fimbriaes*:**

L'adhésion à l'épithélium respiratoire peut jouer un rôle déterminant en ce qui concerne les affections respiratoires. Ainsi, les souches pathogènes d`*E. coli* présentent une meilleure aptitude à coloniser la trachée de poulets axéniques. **(3,**7,9,)

Fimbriae de types 1 :

Les Fimbriae de types 1 sont présents chez la majorité des souches APEC et sont exprimés surtout dans la trachée, les poumons et les sacs aériens. On leur attribue un rôle dans la colonisation pulmonaire, l`interaction avec certaines cellules du système immunitaire (macrophages) et la résistance au sérum.(14)

*Fimbriaes de type 2 (types P)***:**

Les fimbriae de type 2 se rencontrent dans les 20 à 25 % des souches APEC. La présence des fimbriae de type P est significativement plus fréquente chez les souches isolées de poulets septicémiques que chez des souches isolées de poulets sains . Les facteurs impliqués dans la structure et le fonctionnement du fimbriae P sont codés par un groupe de 11 gènes Pap (Pyelonephrits-associated pili ou pili associés aux pyélonéphrites), notamment les gènes papI, papB, papA, papH, papC, papD, papJ, papE, papF, papG. (3)

✔ *La résistance au sérum*:

La résistance à l'effet bactéricide du complément dans le sérum, médiée par différentes structures bactériennes comme la capsule, le lipopolysaccharide, des protéines de membrane externe, est associée aux souches APEC, surtout celles isolées de lésions de septicémie. (3)

L'aérobactine:

C`est le système de captation efficace du fer permettant aux bactéries, qui le possèdent, de survivre en présence de faibles concentrations en fer et, par la même occasion, de se multiplier dans le sang ou dans les organes internes. (3)

✔ *Les toxines :*

La présence des toxines est sujette à controverse. Elles sont peu ou pas présentes hormis les toxines VT2y associées à la maladie dénommée 'swollen head disease' et la toxine ECVF ou Vat, décrite chez une trentaine de souches APEC.(15)

L'antigène K1 (ou la capsule)**:**

La capsule permet la résistance à l'effet bactéricide du complément en interagissant avec C3 et C3b des voies classiques et alternatives du complément. L'antigène K1 est fréquemment associé aux souches APEC les plus virulentes.

✔ *Le curli :*

Le curli est une structure filamentaire spiralée présente à la surface bactérienne des *E. Coli* et des Salmonella. Cette structure permet l'adhésion des bactéries à des matrices extracellulaires et à des protéines du sérum. Le curli est présent chez 99 % des souches APEC et semble jouer un rôle dans les étapes préliminaires de l'infection.

*L`hémagglutination***:**

Elle est due à l'action d'une hémagglutinine sensible à la température et codée par le gène tsh dont la localisation est plasmidique. La prévalence du gène tsh a été d'ailleurs investiguée sur une collection de sur le modèle du poussin d'un jour.

1.3 La colibacillose aviaire (3,9,10,11)

1.3.1 Forme localisée

L'omphalite

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

Les signes cliniques sont:

✔ Les poussins sont déshydratés, la région cloacale est souillée par des fientes pâteuses, la région cutanée de l'ombilic est souvent humide et inflammée;

✔ Le sac vitellin n'est pas résorbé. Il est distendu, malodorant, de couleur et consistance anormale;

✔ La vésicule biliaire est hypertrophiée.

Le diagnostic différentiel comprend les autres bactéries telles que les Staphylocoques, Proteus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus ou les entérocoques.

1.3.2 La cellulite

La cellulite est une affection cutanée, principalement au niveau de l'abdomen et des cuisses. Les facteurs environnementaux et d'élevage (nervosité des animaux, nature de la litière, surpeuplement, hygrométrie) sont déterminants. De par la rapidité d'apparition des lésions, les conditions d'enlèvement et de transport sont particulièrement importantes. Des plaques d'exsudat séro-sanguins à caséeux dans le tissu sous cutané, qui peuvent apparaitre seulement 12 heures après une griffure, sont visibles à l'autopsie. La cellulite est un motif de saisie très fréquent en abattoir.

1.3.3 Le syndrome de tête enflée

Il s'agit d'une affection rare qui fait davantage penser à une sinusite mais qui correspondent fait à une cellulite localisée dans la région périorbitaire. En revanche, contrairement à la cellulite classique, l'origine de l'affection semble être une infection des voies respiratoires

1.3.4 Maladie diarrhéique

Quelques souches s'attachent et abrasent l'épithélium mais les maladies immunosuppressives, telles que la maladie de Gumboro chez le poulet ou le coronavirus pour la dinde, prédisposent généralement à l'entérite. Les animaux présentent une diarrhée, ce qui entraine une déshydratation. A l'autopsie, les intestins et caeca sont distendus avec du liquide et du mucus.

1.3.5 Coligranulomatose

C'est une affection très rare du tube digestif des gallinacés se traduisant par la

formation de lésions granulomateuses des caeca, du duodénum, du mésentère et du foie de la poule. Contrairement à la tuberculose, la rate est très rarement atteinte

Colibacillose vénérienne

Elle ne touche que les dindes de reproduction après la première insémination. Les signes cliniques observés sont :

- ✔ Un prolapsus cloacal et intestinal
- ✔ Une absence de ponte
- ✔ A l'autopsie, il est souvent observé une rétention de l'œuf ou une ponte .

1.3.6 Salpingite et salpingopéritonite

Il s'agit d'une infection de l'oviducte puis du péritoine. Il existe un tropisme particulier de certains colibacilles pour l'appareil génital femelle des oiseaux. Chez les animaux reproducteurs, les colibacilles présents dans le cloaque sont généralement à l'origine de l'infection. Il s'agit donc d'une infection ascendante. La rétention d'un œuf venant obstruer l'oviducte, le virus de la bronchite infectieuse et les mycoplasmes peuvent prédisposer à la salpingite. Chez les animaux immatures, il s'agit le plus souvent d'une infection respiratoire, impliquant le sac aérien abdominal gauche .Les signes cliniques sont:

- ✔ Une mortalité sporadique;
- ✔ Des symptômes respiratoires (selon l'origine primaire de l'infection)
- ✔ A l'autopsie, les lésions suivantes sont observées :

Une masse ferme d'un exsudat caséeux dans l'oviducte

Une ovarite allant jusqu'à la ponte intra-abdominale

1.3.7 Orchite et épididymite

.Cette affection est rare et correspond également, comme chez les femelles reproductrices, à une infection ascendante. Le testicule est œdématié, ferme et de forme irrégulière.

1.3.8 Arthrites et synovites

Les colibacilles peuvent surinfecter des maladies primitives telles que les arthrites à réovirus (poulet, canard) ou les synovites à Mycoplasma synoviae.

Ils peuvent également être des agents primaires dans deux situations: Les colibacilles sont inoculés par des blessures ou des traumatismes (lors du chaponnage par exemple) puis des lésions chroniques de développement sur les survivants

Dans ce dernier cas, des arthrites, ténosynovites et spondylarthritesse développent mais des ostéomyélites peuvent également apparaitre. Ainsi, en cas de boiterie, il faut rechercher des signes d'ostéomyélite. Chez le jeune animal, les signes nerveux sont possibles, en lien avec une méningite ou encéphalite. Chez le dindon, l'ostéomyélite touche les os, les articulations et les tissus mous péri-articulaires. Ces lésions sont associées à des lésions hépatiques: le foie est hypertrophié et devient verdâtre.

1.3.9 Forme systémique

1.3.9.1 Colisepticémie

C'est la septicémie provoquée par l'invasion colibacillaire. Elle se traduit par des mortalités brutales après une période d'abattement et d'anorexie des gallinacés ou palmipèdes. La gravité et la durée de la maladie sont conditionnées par la pression infectieuse et la virulence de la souche bactérienne d'une part, et par les capacités de l'hôte à se défendre d'autre part. La Colisepticémie a deux principales origines

✔ Respiratoire

Cette origine est la plus fréquente chez les oiseaux. La maladie s'observe à tout âge, avec une fréquence supérieure entre six et dix semaines L'évolution est alors suraiguë avec une morbidité atteignant 20 à 25% du troupeau et une mortalité variable. Il y a beaucoup de non-valeurs économiques entrainant des saisies à l'abattoir.

Le colibacille est souvent un germe de surinfection d'une virose ou d'une infection bactérienne:

•Gallus: pneumovirus,paramyxovirus,maladie de Gumboro, bronchite infectieuse (coronavirus), influenza faiblement pathogène, entérocoques, salmonelles

;•Dinde: métapneumovirus, adénovirus, influenza faiblement pathogène;

•Canard: réovirus, parvovirus

Cette affection peut aussi faire suite à une mycoplasmose à Mycoplasma gallisepticumen la compliquant le plus souvent :

•Poulet de chair: trois semaines à l'abattage;

•Poulette: d'un à trois mois;

•Canard: la maladie est liée à une mauvaise hygiène et complique souvent la réovirose et les parvoviroses.

Parfois, le colibacille est l'agent étiologique primaire après des dysfonctionnements zootechniques importants.

Enfin, les affections débilitantes intercurrentes sont largement prédisposantes:

•Parasitoses: coccidiose, helminthose, trichomonose, histomonose;

•Carences nutritionnelles

✔ Entérique:

Cette voie touche surtout la dinde après une entérite hémorragique virale car ce virus est immunodépresseur. Suite à l'altération de la muqueuse intestinale, le colibacille passe dans l'organisme

Les lésions observées sont nombreuses, mais peu spécifiques:

•Une péricardite associée parfois à de la myocardite: l'exsudat est fluide au début puis devient rapidement caséeux;

•Une péri hépatite fibrineuse, le foie est hypertrophié, la coloration est intense avec quelques zones de dégénérescence parfois verdâtres;

•Une rate hypertrophiée avec des points de nécrose;

•Une néphrite, des dépôts d'urate;

•Une ampoule cloacale distendue par des gaz et des matières liquides blanchâtres;

•Une légère ascite: aspect brillant des viscères par le liquide abdominal inflammatoire.

1.3.9.2 Septicémie hémorragique

Elle se traduit par les lésions suivantes:

•Des troubles circulatoires généralisés

•Un œdème pulmonaire

•Une hépatomégalie

•Des hémorragies

•Une splénomégalie

1.3.9.3 Colisepticémie néonatale

Cette affection touche le poussin dans les 48h après son éclosion. La maladie n'est pas contagieuse. Comme pour toutes entérobactéries, la voie principale de contamination des poussins est la voie digestive, via le vitellus qui communique jusqu'à 3 à 5 jours avec les intestins

A l'autopsie, les lésions observées sont principalement:

•Une congestion des poumons,

•Une péricardite,

•Des plages hémorragiques,

•Un œdème des séreuses,

•Une splénomégalie,

1.3.9.4 Colisepticémie

Atteint poules et dindes reproductrices.

Cette affection est émergente chez la poule pondeuse. Elle a souvent lieu en début de ponte et se traduit par une mortalité pouvant aller jusqu'à 10%.

1.3.9.5 Septicémie colibacillaire chez l'adulte

La contamination colibacillaire se fait essentiellement par voie aérienne. Le délitement des fientes et de la litière provoque de véritables aérosols de bactéries qui seront inhalées par les oiseaux. Les sacs aériens contaminés peuvent propager l'infection au foie, cœur et organes génitaux par simple contact. Même si le sérotype O78 est souvent associé à cette affection, certaines souches intestinales banales provoquent des infections après entérite.

Les lésions induites sont:

•Une péricardite;

•Une périhépatite, un foie hypertrophié;

•De l'aérosacculite**;**
•Une rate hypertrophiée

Dans toutes les situations décrites précédemment, le diagnostic de certitude ne pourra être établi qu'après l'isolement du germe par le laboratoire.

1.4 Diagnostic biologique des infections à E.Coli .(1,2,3,

1.4.1 Isolement et diagnostic :

L'isolement d'E.coli en laboratoire ne pose aucun problème particulier. Le principal souci sera en fait d'éviter les diagnostics par excès, car les colibacilles sont des contaminants très fréquents et ils ne sont pas nécessairement à l'origine de la maladie. L'isolement n'est significatif que s'il est effectué à partir de tous les organes de plusieurs animaux. Le colibacille sera alors l'unique germe isolé agissant seul ou en synergie avec des virus, mycoplasmes ou à la suite d'un stress. L'association à des lésions fibrineuses donne plus de signification à l'isolement. Le contexte clinique et surtout, le site de prélèvement devra donc être soigneusement enregistré pour interpréter correctement le résultat du laboratoire .Sur des lésions systémiques, les prélèvements sur la moelle osseuse sont les plus pertinents. Des écouvillons sur sac péricardique, foie et rate, sur plusieurs animaux, sont également possibles. Le diagnostic de certitude est établi si l'on obtient des cultures pures et abondantes de colibacilles sur tous les prélèvements .Le typage des colibacilles fait appel à la sérotypie par agglutination sur lame, avec des antisérums spécifiques des AgO1, O2 et O78 .

La recherche du colibacille se fait par des techniques bactériologiques:

L'examen microscopique révèle la présence de bacilles à Gram négatif mais il arrive que la morphologie soit atypique.

La culturesur milieux simples ou sur milieux lactoses avec indicateur coloré donne lieu au développement de bacilles à Gram négatif, fermentant le lactose et possédant les caractères biochimiques qui caractérisent l'espèce (Tableau 01. Caractères biochimiques des entérobactéries.

Un sérotypage n'est pratiqué couramment que pour les souches entéropathogènes (EPEC) et pour les stéréotypes O157 (EHEC) et O78 (ETEC) pour lesquelles il existe des sérums agglutinants spécifiques.

La mise en évidence des entérotoxines se fait par techniques immunologiques, par l'étude de l'effet cytopathogène sur des cultures cellulaires ou par hybridation ADN/ADN .

La recherche de l'antigène K1 dans le sérum, le LCR ou les urines du sujet atteint, par agglutination de particules de latex sensibilisées, permet un diagnostic rapide mais on observe une réaction croisée avec l'antigène du groupe B des méningocoques

Le sérodiagnostic des infections à colibacilles n'est utile que dans les infections urinaires où la découverte d'anticorps (par agglutination ou par hémagglutination passive) fait craindre une "infection haute" chez l'homme. On peut révéler la présence d'adhésines grâce à leur pouvoir hémagglutinant sur les globules rouges humains ou animaux (2,3). Les souches EIEC qui ressemblent aux *Shigella* sont reconnues par leur pouvoir invasif mis en évidence par le test de Sereny (l'instillation de la souche dans l'oeil d'un cobaye provoque une kérato-conjonctivite) ou par leur pouvoir envahissant sur cellule HeLa en culture.

L'identification du germe est déterminée à partir de caractères phénotypiques, métaboliques ou biochimiques et physiologiques (1,2,3 ces méthodes sont basées sur les propriétés de croissance des micro-organismes, après une incubation d'au moins 18 heures et, en général 36 à 48 heures s'écoulent avant que l'on obtienne les résultats de l'analyse des échantillons.

Il en est de même pour la mise en évidence de l'antibioresistance qui passe par ces méthodes avant la réalisation de l'antibiogramme. Or les enjeux économiques, médicaux et sanitaires nécessitent de réduire ces délais à quelques heures, voir quelques minutes, par l'utilisation des tests moléculaires permettant t la caractérisation des différentes souches de *E. coli*.et d'identifier les profils de résistance aux antibiotiques.(3)

1.5 Diagnostic différentiel :

Affection	**Etiologie possible**
Septicémie aiguë	Pasteurella, Ornithobacterium, Salmonella, Streptococcus, Riemerella, Pseudomonas, Staphylococcus
Péricardite/péritonite	Chlamydia, Pasteurella multocida, Streptococcus, Entérococcus
Aérosacculite	Pasteurella, Mycolplasma, Chlamydia
Infection sac vitellin	Aerobacter, Salmonella, Proteus, Bacillus, Staphylococcus, Entérococcus, Clostridium

Granulome hépatique	Bactéries anaérobies

Tableau 03: Diagnostic différentiel de la colibacillose-(9)

1.6 Traitement(9,3)

Le traitement doit être précoce). Il fait appel aux antibiotiques actifs contre les grams –avec, pour les colibacilloses systémiques, une diffusion dans tout l'organisme. En ce sens, ne pouvant franchir la barrière intestinale de l'animal, les polypeptides (colistine) et aminocyclitols (spectinomycine) sont contre-indiqués en cas de lésions systémiques.

Si le choix est possible, après réalisation d'un antibiogramme, il vaut mieux avoir recours à des molécules actives d'élimination tissulaire rapide **:**

- Quinolones: acideoxolinique, fluméquine, enrofloxacine
- Béta-lactamines: amoxicilline, ampicilline
- Tétracyclines: oxytétracycline, cyclines de 2ème génération (doxycycline)
- Triméthoprime-sulfamides

La multirésistance au sein des souches colibacillaires est fréquente. Il est à noter que les anticoccidiens, hormis le toltrazuril, ont également un effet sur les coliformes**.(3)**

1.7 Prévention :(9,3)

Il existe un vaccin inactivé commercialisé, le POULVAC E. COLI, destiné aux poulets de chairs, futures pondeuses et reproducteurs. Composé par une souche Escherichia coli vivant type O78, ce vaccin permet de réduire les lésions et la mortalité dues à Escherichia coliO78. Il permettrait également de réduire l'incidence et la sévérité des aérosacculites liées à une infection par des colibacilles de sérotypes O1, O2 et O18.

Les autovaccins inactivés permettent d'utiliser la souche isolée dans l'élevage et sont efficaces dans la prévention des colibacilloses en ponte. Cette solution est beaucoup plus adaptée et en ce sens favorisée par les éleveurs.

La prophylaxie sanitaire vise à lutter contre toutes les sources de contamination, les vecteurs animés ou inanimés, et les facteurs favorisants:

- La ventilation et la qualité de la litière en élevage doivent être maitrisées

- Les rongeurs et insectes sont des réservoirs de colibacilles et doivent donc être combattus
- La qualité de l'eau de boisson, se traduisant par un potentiel hydrogène (pH)bas (autour de 6) et un potentiel redox haut (autour de 300mV) en bout de circuit, est primordiale pour limiter la prolifération bactérienne
- Les mesures générales préventives de séparation des âges, des espèces, de nettoyage, de détergence, de désinfection et de vide sanitaire sont aussi indispensables dans la prévention des colibacilloses. E. coli est sensible à la dessiccation et à la plupart des acides organiques tels que l'acide citrique, l'acide tartrique ou l'acide salicylique. Il est toutefois à noter, même si les tests d'homologation sont réalisés sur des colibacilles, une possible résistance aux produits désinfectants tels que les ammoniums quaternaires, les formaldéhydes et le peroxyde d'hydrogène. Enfin, nous pouvons également mentionner l'effet positif des pré et probiotiques sur la maitrise de la flore digestive. En inoculant des lactobacilles, par des mécanismes de compétition, la population de colibacilles prolifère moins.

2 Deuxième partie : les bactéries et les antibiotiques

2.1 Définition

On appelle antibiotique, «toute substance chimique, quel que soit son origine, agissant spécifiquement sur une étape essentielle du métabolisme des bactéries.»(FERRON, 1986)

2.2 Principes généraux de l'antibiothérapie (2, 3, 16,18)

2.2.1 Objectifs de l'antibiothérapie

D'un point de vue biologique, l'objectif d'un antibiotique est d'éradiquer directement ou indirectement la bactérie. En médecine aviaire, le traitement antibiotique doit, avant tout, diminuer les pertes économiques liées à la maladie, impactant l'éleveur ou même l'ensemble de la filière. En ce sens, l'antibiothérapie doit répondre à un enjeu économique.

2.2.1.1 Activité de l'antibiotique :

- Action de l'antibiotique sur le germe

La pharmacodynamie décrit l'effet de l'antibiotique sur la bactérie. Elle est conditionnée par plusieurs aspects présentés ci-dessous

- Notion de spectre d'activité

Le spectre correspond à l'ensemble des espèces bactériennes sur lesquelles un antibiotique donné est actif. Si la famille antibiotique agit sur les bactéries Gram + et Gram -, le spectre est large. Si l'antibiotique n'agit que sur des bactéries Gram + ou des Gram -, le spectre est étroit. Un tableau de classification pour les quatre antibiotiques étudiés est proposé ci-dessous. Il

reprend la famille antibactérienne à laquelle l'antibiotique appartient –et avec laquelle il partage la même structure de base-et son spectre d'activité (3,18).

	Amoxicilline	Tetracycline	Enrofloxacine	Triméthoprime -sulfamides
Famille	**Betalactamine** **Pénicilline du groupe A**	**Tetracycline**	**Quinolone**	**Sulfamide**
Spectre d'activité	**Spectre large**	**Spectre large**	**Spectre large orienté Gram- et mycoplasme**	**Spectre large**

Tableau 04 Famille des antibiotiques étudiés et spectre d'activité associé–D'après ANTIBIOVET, 2016

2.2.1.2 Cible et Mode d'action des antibiotiques :

Tous les antibiotiques inhibent la croissance ou détruisent certaines bactéries en agissant, soit au niveau de leur paroi et/ou membrane cytoplasmique, soit à l'intérieur de leur cytoplasme .ils vont conduire à une inhibition de leur multiplication ou à leà leur destruction.

❖ Cible des antibiotiques et effet antibactérien direct :

La pénétration de l'antibiotique dans la bactérie obéit aux lois de passage à travers les membranes de nature lipoprotéique.

- Par diffusion passive pour les antibiotiques liposolubles
- Par filtration : les petites molécules hydrophiles traversent la paroi au travers de tunnels appelés porine
- Par transport actif : ce mécanisme nécessite des enzymes appelées permeases fonctionnant par apport d'énergie

1 ère cible : l'enveloppe bactérienne (paroi, membrane cytoplasmique)

L'altération**,**voire la destruction partielle de l'enveloppe bactérienne, fragilise la bactérie et peut conduire à son éclatement sous l'effet de sa pression interne .

Les betalactamines (les pénicillines, céphalosporines) pénètrent dans la paroi bactérienne et inhibent sa synthèse lorsque les germes se divisent, les betalactamines agissent donc sur les germes en phase de multiplication active, situation rencontrée notamment lors d'infection de type septicémie

Les aminosides : (gentamicines, streptomycines, spectinomycine) et les polypeptide (colistine) se lient directement à la membrane cytoplasmique et désorganisent la structure lipoprotéiques pour finalement entrainer la mort du germe , Cet effet bactéricide atteint les germes en repos et les germes en multiplication.

2ème cible : l'ADN bactérien :

Les sulfamides et le triméthoprime bloquent la synthèse des éléments consécutifs de l'ADN, cette action permet d'inhiber la multiplication des gerles mais pas de les tuer : c'est une activité bactériostatique

Les quinolones bloquent la réplication et la transcription de l'ADN : cette désorganisation du métabolisme bactérien se traduits rapidement par la mort de la bactérie : c'est une activité bactéricide

3ème cible : les supports de la synthèse protéique

Certains antibiotiques peuvent se lier aux ribosomes et entrainer des défauts de synthèse protéique. Les aminosides induisent la synthèse de protéines anormales , le dysfonctionnement conduit à la mort de la bactérie (activité bactéricide).Les macrolides et les tétracyclines entrainent un blocage de la synthèse protéique, se traduisant par un arrêt de la multiplication des germes sans les tuer (activité bactériostatique)**.**

2.2.1.3 Effet indirect des antibiotiques :

Aux concentrations thérapeutiques, voir même à des concentration dites subinhibitrices , les antibiotique peuvent exercer un autre type d'effet antibactérien ,ce qui peut expliquer le paradoxe de certain antibiotique dont l'efficacité clinique est supérieure a ce que laisse prévoir les antibiogrammes.

Effet post antibiotique (EPA) :correspond à une inhibition persistante de la croissance bactérienne malgré la disparition de l'antibiotique du milieu de culture, les EPA les plus long (3h ou plus) sont obtenus par les tétracycline et les macrolides sur les bactéries Gram-positive , et les aminosides sur les bactéries Gram –négatives
Inhibition de l'adhésion et de la production de toxine par les bactéries**:** certaines protéines bactériennes sont indispensables pour permettre l'expression du pouvoir pathogène du germe, ce sont les protéines des pili (facteur d'adhésion aux cellules hôtes) et les toxines (responsable des lésions tissulaires) .Les antibiotique inhibant la synthèse protéique (macrolide, tétracycline, aminosides**)** en réduisant la synthèse.
Interférence avec les défenses immunitaire de l'animal**:**une altération de l'enveloppe bactériennes sous l'action des anti-infectieux peut être suffisante pour permettre la destruction de la bactérie par les cellules du système immunitaire . (macrolides , fluoroquinolones).

Ces actions cependant peu étudié chez la volaille, sont probablement limitées dans les mesures ou l'antibiothérapie est en général de courte durée. Les organismes ciblés par l'antibiotique sont variés et les mécanismes d'action diffèrent selon la famille d'antibiotique. L'efficacité de l'antibiotique est donc conditionnée par la présence de l'organite ciblé sur la bactérie.

Mode d'action de l'antibiotique

- Les Beta-lactamines perturbent la synthèse de la paroi bactérienne en se fixant sur les enzymes -notamment sur la transpeptidase -de la dernière étape de la biosynthèse. Cette famille est donc plus efficace sur des bactéries en croissance.

- Les sulfamides, potentialisées par le triméthoprime,empêchent la biosynthèse des bases puriques et pyrimidiques en inhibant la biosynthèse de leur précurseur, l'acide tétra-hydrofolique
- Les tétracyclines inhibent la traduction en protéines en empêchant la fixation de l'aminoacyl-ARNt sur le site A des ribosomes. L'accès à leur cible implique le passage de la membrane externe des bactéries Gram –via les porines. Les composés hydrophiles sont alors favorisés (les tétracyclines).

2.2.2 Mécanisme d'action des résistances aux antibiotiques :

2.2.2.1 Définition de la résistance :

La résistance d'une bactérie à un antibiotique se traduit in vivo par l'impossibilité d'atteindre des concentrations tissulaires au moins égale aux concentrations Minimales inhibitrices, et donc par un échec thérapeutique, cependant il faut bien se garder de conclure qu'un échec thérapeutique est systématiquement synonyme d'antibioresistance (antibiothérapie raisonnée en élevage avicole, 17)

- **Résistance intrinsèque :**

Les bactéries intrinsèquement protégées de l'action des antibiotiques sont celles qui présentent une paroi ou une membrane cytoplasmique impropre à leur fixation ou à leur pénétration dans la bactérie, c'est à partir des résistances et sensibilités intrinsèque des différentes espèces bactériennes qu'est défini le spectre d'un antibiotique

- **Résistance acquises :**

Elle correspond à une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de croitre en présence d'une concentration significativement plus élevée en antibiotique que les concentrations thérapeutiques usuelles. Cette modification du capital génétique est obtenue soit par mutation des chromosomes bactériens (résistance chromosomique) soit par acquisition d'un plasmide ou d'un transposon (résistance extra-chromosomique)

- **Phénotype de résistance ou antibiotype :**

c'est le profil de résistance présenté par une souche donnée à un ensemble d'antibiotique .On étudie particulièrement l'évolution de résistance multiple .en fonction des régions et des espèces hôtes (volailles , porcs , bovins) , en raison du danger qu'elle représente au plan clinique (réduction de l'arsenal thérapeutique) et épidémiologique (transmission potentielle à

l'homme) .Les résistances multiples ont en effet valeur de signature du germe en cause , et parfois un ou deux marqueurs de résistances très particuliers suffisent à tracer une souche .

2.2.2.2 Mécanisme de résistance :

Les bactéries peuvent développer plusieurs stratégies de défenses aux antibiotique, parfois active simultanément :

Diminution de la perméabilité membranaire :

Tous les antibiotique ou presque sont concernés par ce mécanisme de résistance :

Ceux qui agissent après pénétration dans le cytoplasmes de la bactérie : **macrolide , phenicolés , quinolones , tetracyclines , trimethoprime-sulfamides.**

Ceux qui agissent après pénétration dans l'espace periplasmique situe entre membrane externe et membrane cytoplasmique : **betalactamine**

Si la perméabilité membranaire est très modifiée, la bactérie peut présenter une résistance croisée à plusieurs antibiotique, mais pas nécessairement car le mode de transfert sont variés : par exemple Escherichia Coli peut présenter une parodie imperméable aux pénicillines par diminution du nombre ou du diamètre des porines ; par contre les quinolone et autre antibiotiques liposolubles peuvent traverser la membrane externe sans emprunter ces protéines tunnels.

Expulsion de l'antibiotique (efflux actif)

Le phénomènes consiste en un transport actif de l'antibiotique depuis l'intérieurs vers l'extérieur de la bactérie, il concerne essentiellement les **tetracycline** , transportées vers les « protéines T Fixées sur la membrane cytoplasmique , il peut être couplé au mécanisme précèdent.

Inactivation enzymatique ou séquestration de l'antibiotique dans la bactérie

La bactérie synthétisent des enzymes qui inactivent l'antibiotique en modifiant ou en clivant la molécule, plus rarement il s'agit simplement d'une séquestration de l'antibiotique . de support le plus souvent plasmidique, ce mécanisme est actuellement connu pour les **aminoside,**les **betalactamines**, et les **dérivés phénicolés**

Modification des cibles de l'antibiotique

parfois la substitution d'un seul acide aminés suffit à empêcher l'antibiotique de se fixer efficacement sur sa cible, cette réduction d'affinité concerne la membrane bactérienne pour la colistine , les ribosomes pour les aminosides et les macrolides , ou des enzymes tel que la gyrase , cible des quinolones , la dihydrofolate-reductase , cible du trimethoprime , les enzymes d'assemblage du peptidoglycane encore appelé protéines de liaison des pénicillines .

Multiplication de cible de cible ou synthèse de fausse cible

La bactérie développe une autre voie métabolique qui supplée celle inactivée par l'antibiotique (sulfamides , triméthoprime , aminosides) .La bactérie amplifie la production de la cible, qui se trouve en surnombre par a apport à l'antibiotique (sulfamide, triméthoprime) , elle peut aussi fabriquer de fausse cible qui jouent le rôle de leurres (fausse protéines de liaison de pénicillines) .

Voie métabolique nouvelle (tolérance)

La bactérie développe une autre voie métabolique qui supplée celle inactivée par l'antibiotique (sulfamides , triméthoprime , aminosides) En laboratoire , il est même possible de produire des souches qui ne cultivent qu'en présence d'antibiotiques (streptomycine).

2.2.2.3 Support génétiques de la résistance aux antibiotiques

Le déterminisme génétiques ou support des résistances conditionne la facilité d'acquisition, la rapidité d'évolution et la transmissibilité de résistance entre espèces bactériennes, on considère généralement que les résistances a support extra-chromosomique (plasmide et transposons) représentent 90 % résistances observées en clinique, contre 10% pour les résistances chromosomiques (antibiothérapie raisonnée en élevage avicole, 17)

- **Résistance acquise d'origine chromosomique :**

Mode d'acquisition: c'est une résistance provoquée par une modification du chromosome de la bactérie, l'antibiotique ne fait que sélectionner les bactéries résistantes alors que les bactéries sensibles sont détruites, les bactéries filles seront ensuite porteuses de la même mutation, par duplication du chromosome : c'est une transmission verticale. Ce phénomène concerne habituellement une cellule bactérienne sur un milliard taux qui reste élevé lorsqu'on

le compare à la flore digestive, dont le nombre et la diversité sont très important en particulier au niveau du caecum.

La mutation est plus au moins importante : on y distingue des « microlésions » des chromosomes (altération d'une seule paire de bases de l'ADN) et des « macro lésion » (altération d'une séquence plus étendue)

Parmi les mécanismes de résistance précédemment détaillés, la modification des structures cellulaires provoquées par la mutation chromosomique provoque le plus souvent une diminution de la perméabilité de la paroi bactérienne ou bien une perte d'affinité des cibles intracellulaire de l'antibiotique.

Phénotypes de résistance:

La mutation est généralement unique et concerne un seul antibiotique ou une seule famille d'antibiotique .Pour certains antibiotique , comme la colistine , les quinolones la lincomycine , c'est le seul déterminisme connu .Parfois elle provoque une perte de viabilité de la bactérie et donc les souches résistantes sont très peu fréquente : cas de résistance à la colistine .la mutation double ou triples sont rares mais possible lors de forte pression de sélection , par exemple dans le cas de quinolone pour lesquelles les résistances par paliers successifs sont alors observées.

- **Résistance acquise d'origine extra-chromosomique : plasmide et transposons**

✔ **Acquisition de plasmides :**

En l'absence d'antibiotique, seules certaines bactéries hébergent les plasmides de résistance – plasmide R- au sein d'une population, en présence de l'antibiotique leur proportion augmente et elles transmettent leur plasmides a toute les bactéries capables de les acquérir : c'est une transmission horizontale

Les résistances plasmidique sont parfois qualifié d'épidémiques, pour souligner leur caractère hautement transmissible au sein d'une population bactérienne : les plasmides codent pour leur propre réplication, réalisé jusqu'à 10 exemplaires par bactéries ils sont transférée en particulier au cours de la conjugaison, phénomènes répandu parmi les bactéries Gram-négative et quelque bactérie Gram-positive et qui consiste en un accolement paroi à paroi accompagné d'échange complexes entre bactéries

Les plasmides peuvent aussi être disséminés par transduction, c'est-à-dire par l'intermédiaire de bactériophage qui les insère dans leur propre matériel génétique

✔ **Acquisition de transposons**

La transposition peut s'effectuer dans n'importe quelle zone du plasmide, comportant une homologie structurale avec des extrémités de la séquence d'ADN à insérer.Ce phénomènes explique comment les gènes d'antibioresistance peuvent être acquis par des bactéries phylogenetiquement éloignée des bactéries donneuses : là où le plasmide du donneur échoue à s'implanter ou se répliquer, le transposon réussit en s'insérant dans les plasmides de la cellule réceptrices (antibiothérapie raisonnée en élevage avicole17)

Phénotypes de résistance**:**

En clinique la majorité des résistance sont d'origine extra-chromosomique , la résistance peut être d'emblée totale (**streptomycine** , **spectinomycine)** ou bien elle évolue par paliers (**betalactamines** , **macrolides** ,**quinolone**)et peut aussi se déclarer au cours de traitement .si la CMI originelle est faible , les premiers paliers de résistance peuvent parfois être compensés par l'augmentation des concentration tissulaire et donc des posologies. La résistance plasmidique, compte tenu de son mode d'acquisition, est volontiers multiple lorsque la pression de sélection est importante.

3 Troisièmes partie : de l’antibiothérapie à l’antibioresistance

3.1 Antibiotique et antibioresistance :(2,3,18)

Les conséquences de la consommation d'antibiotiques sur l'écologie bactérienne ne sont pas de découverte récente. Le lien direct entre surconsommation d'antibiotiques et mésusage de ces médicaments avec l'émergence de résistance a été formellement confirmé par de multiples études. Malgré ces connaissances, l'engouement pour ces « médicaments miracles », et leur utilisation massive et très souvent inappropriée a continué. Par conséquent l'ensemble des processus de résistance a évolué, et ce, de façon exponentielle, avec la diffusion de résistance, l'émergence de nouvelles résistances, voire le cumul de résistance chez des

bactéries devenues « multi » résistantes. S'ajoute à cela, le quasi absence de développement de nouveauxantibiotiques par l'industrie pharmaceutique, conduisant l'humanité vers une véritable impasse thérapeutique. Devant la gravité de a situation et en réponse à cette « crise d'antibiotiques », il est impératif de mettre en place des programmes de surveillance des consommations d' antibiotiques et de l'écologie bactérienne (état des lieux des résistances, transmissions croisées, émergence de nouvelles résistances) ainsi que des programmes veillant au bon usage des antibiotiques (luttant contre la surconsommation des antibiotiques et leurs prescriptions inappropriées), afin de limiter l'émergence et la diffusion de souches bactériennes résistantes et de préserver l'efficacité des antibiotiques.(3)

3.1.1 Définitions

L'Antibiotique :

Par définition, c'est une molécule qui inhibe ou tue les microbes par des interactions spécifiques avec des cibles bactériennes, sans aucune considération de la source du composé ou classe particulière.

Les antibiotiques sont des agents antibactériens naturels d'origine biologique élaborés par des microorganismes (champignons et diverses bactéries) ou synthétiques (dérivés semi synthétiques). Comme leur nom l'indique, ils vont s'opposer aux bactéries, soit en inhibant leur croissance et leur reproduction sans les tuer (effet bactériostatique), soit en les détruisant (effet bactéricide)

Les antibiotiques peuvent être utilisés dans différents contextes et pour différentes raisons :

L'antibiothérapie :

Il s'agit du traitement d'animaux cliniquement malades à but curatif. Ce traitement permet également de réduire l'excrétion bactérienne (et donc d'éviter les contaminations animales mais aussi humaines dans le cas d'infections zoonotiques) ainsi que de limiter les pertes de production et la mortalité

La métaphylaxie :

lorsqu'une proportion importante d'animaux d'un élevage est atteinte d'une infection bactérienne contagieuse (en général dès que 10 à 15% de l'effectif est atteint), l'ensemble des individus du lot est placé sous traitement antibiotique à dose curative. La métaphylaxie permet donc de traiter les animaux avant l'apparition des signes cliniques, lorsqu'ils sont encore en incubation et ainsi de limiter la morbidité

L'antibioprophylaxie : il s'agit de l'administration préventive d'antibiotiques à dosethérapeutique à des individus soumis à une pression de contamination régulière et bien connue à une période critique de leur vie. La nature de l'infection doit préalablement être identifiée par des examens de laboratoire. En élevage, l'antibioprophylaxie est régulièrement utilisée, par exemple, lors du tarissement des vaches laitières pour éviter l'apparition de mammites de tarissement, pour prévenir les problèmes respiratoires chez les veaux lors des allotements ou encore pour lutter contre les diarrhées lors du sevrage des porcelets et chez la volaille pour prévenir contre les infections respiratoires et parasitaires. L'antibioprophylaxie est également utilisée en prévention des infections bactériennes lors d'opérations chirurgicales

Les antibiotiques étaient autrefois utilisés en tant que promoteurs de croissance dans les aliments, à titre d'additif, en majorité dans les élevages porcins et avicoles. Ils étaient alors utilisés à doses très faibles non curatives. Cette utilisation des antibiotiques a été progressivement interdite depuis 1998, dans l'Union Européenne, par l'application du principe de précaution. Ainsi, en 1998, sept promoteurs ont tout d'abord été supprimés. Depuis 2001, des mesures ont été progressivement prises afin d'arriver, à terme, à une interdiction totale de l'utilisation des antibiotiques promoteurs de croissance dès la fin 2005

Les antibiotiques sont encore utilisés comme promoteurs de croissance dans certains états, notamment aux Etats-Unis

3.1.2 Usage des antibiotiques=Antibiothérapie

A l'heure où l'antibiorésistance est devenu l'un des problèmes majeurs en santé à la fois humaine et animale, l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire est de plus en plus controversée. Il est donc du devoir du vétérinaire de lutter contre ces résistances, notamment en adoptant une antibiothérapie raisonnée et prudente. Ainsi, lors de la mise en place d'une thérapeutique antibiotique, le choix de la molécule mais aussi la décision d'une posologie adaptée s'imposent. Le choix de cette posologie présente plusieurs enjeux. Le premier est médical, il faut traiter efficacement sans effets adverses et ne pas sélectionner de résistances chez les pathogènes, afin que nos antibiotiques restent efficaces le plus longtemps possible. Mais il y a aussi un enjeu de santé publique, il faut limiter les résistances chez les pathogènes zoonotiques et chez les bactéries commensales afin d'empêcher le développement de ces résistances chez l'homme, particulièrement pour les molécules les plus récentes, aussi appelées « antibiotiques critiques », encore peu touchés par ces résistances. L'antibiothérapie raisonnée passe notamment par un traitement précoce et efficace. Ainsi, depuis quelques années se développent de nouveaux schémas thérapeutiques visant à optimiser l'activité des antibiotiques.(3)

3.1.3 Consommation des antibiotiques :

Pour comprendre comment évaluer la consommation des antibiotiques, nous nous reposons sur un modèle européen. En effet, afin d'identifier les facteurs de risque pouvant favoriser le développement et la propagation de l'antibiorésistance en Europe, l'Agence Européenne du médicament a lancé en avril 2010 un projet de surveillance européenne de la consommation d'antimicrobiens. Pour obtenir une bonne estimation de la consommation des antibiotiques, un suivi des ventes de l'ensemble des antibiotiques vétérinaires mis sur le marché est effectué. Néanmoins, s'agissant d'estimations, les prescriptions hors AMM des antibiotiques vétérinaires ne sont que partiellement prises en compte et les spécialités ayant une AMM humaine et non vétérinaire pouvant être utilisées dans le cadre de la cascade ne sont pas prises en compte également. Ainsi, les volumes de vente d'antibiotiques ne reflètent toujours pas la consommation réelle des antibiotiques sur le terrain. Pour apporter plus de précision, on estime l'exposition des animaux aux antibiotiques en prenant en compte la posologie, la durée d'administration du traitement, ainsi que le nombre d'animaux traités. Cette exposition est un indicateur beaucoup plus objectif que le volume total (nombre total de produits vendus par an) car elle permet alors d'avoir une idée de la masse d'animaux recevant un traitement antibiotique, du pourcentage d'animaux traités ou encore de la durée d'exposition moyenne d'un animal à un antibiotique. Ces mesures permettent d'avoir des estimations beaucoup plus

précises de l'exposition des animaux et d'aborder la consommation antibiotique sous un tout nouvel angle(3)

3.1.4 Aspects socio-économiques de la consommation d'antibiotiques

L'industrie agro-alimentaire actuelle évolue dans un marché mondial compétitif dans lequel les éleveurs ont intérêt à amener leurs animaux à l'abattoir en bonne santé et le plus vite possible. Ainsi, pour beaucoup d'éleveurs, le recours à l'antibioprophylaxie et à l'antibiothérapie, en évitant les maladies et en diminuant la mortalité, permet un meilleur rendement avec des animaux qui atteignent le poids optimal plus rapidement et une viande de meilleure qualité. Cette méthode reste, selon eux, plus efficace et moins chère que l'amélioration des facteurs zootechniques qui sont parfois coûteux (tels que l'aménagement des bâtiments d'élevage, l'amélioration de la qualité de l'eau ou de la nourriture, la gestion des élevages,…). Cette demande des éleveurs va donc être une pression supplémentaire pour le vétérinaire qui risque de perdre des clients si ces derniers jugent que ses prescriptions ne sont pas conformes à leurs attentes. En effet, le vétérinaire doit être très attentif aux demandes des éleveurs afin de les satisfaire au maximum et de fidéliser sa clientèle. Le prescripteur devra donc veiller à rester éthique et à ne pas se laisser influencer

En contre partie, les consommateurs sont de plus en plus sensibles à la notion de résidus médicamenteux et à l'impact que pourraient avoir les résistances aux antimicrobiens sur la santé publique. Dans le cas de transmissions d'antibiorésistances de l'animal à l'homme par exemple, c'est la réputation du vétérinaire, en tant que premier prescripteur, qui est mise en jeu ainsi que celle de l'éleveur, en tant que premier utilisateur du traitement, qui est incriminée. De tels évènements, mis en avant par les médias, ont de fortes conséquences économiques négatives pour les éleveurs et qui se répercutent également sur les vétérinaires. Devant ces éléments contradictoires qui mettent donc en balance l'utilisation accrue des antibiotiques (pour diminuer les maladies et les mortalités) ou l'utilisation diminuée des antibiotiques (pour éviter l'apparition d'antibiorésistance et sa transmission à l'homme), le vétérinaire doit veiller à ce que ses prescriptions promeuvent la santé publique et animale ainsi que le bien-être animal, afin d'être en accord avec le Code de déontologie de la profession. Quant aux éleveurs, ils doivent veiller à utiliser les antibiotiques de manière judicieuse malgré leur volonté de rendement

3.2 RESISTANCE ET MULTIRESISTANCE

3.2.1 La Résistance bactérienne

La résistance bactérienne se définit comme la capacité de continuer à croitre ou à survivre en présence de l'antibiotique. Les conditions d'activité d'un antibiotique sont de posséder une cible spécifique, de demeurer sous forme active, d'accéder à la cible et d'interagir efficacement avec elle en la désactivant.

(OMS) a proposé deux définitions de la résistance. La première stipule qu'une souche est dite « résistante » quand elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. La deuxième définition, basée sur des critères pharmacologiques et cliniques, définit une souche résistante lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre *in vivo* (2,3).
La résistance aux antibiotiques est donc une réponse physiologique des bactéries à tout usage d'antibiotique

3.2.2 La Multirésistance bactérienne (MRB)

La multirésistance des bactéries aux antibiotiques est un phénomène apparu à la suite de l'utilisation de ces médicaments, dans les années 1950.

La Multirésistance est considérée comme la résistance à au moins 3 familles d'antibiotiques (très fréquente chez E. coli) (3).

Les gènes de résistance aux antibiotiques sont portés soit par des plasmides soit par le matériel chromosomique de la cellule. Des études moléculaires ont montré que ces gènes sont par ailleurs souvent portés par le même plasmide ou la même portion de chromosome. Ainsi, une bactérie résistante à un antibiotique peut également l'être à un ou plusieurs autres et transmettre ces **multirésistances** par un seul échange génétique. Ceci se retrouve au niveau des études de terrain au cours desquelles on remarque de plus en plus l'existence de souches **multirésistantes**.On peut noter par exemple, dans les élevages d'animaux de production, qu'entre 80 et 99% des souches d'E. Coli résistantes au ceftiofur (par la production d'enzyme BLSE pour la grande majorité) sont également résistantes aux tétracyclines et que 86% de ces dernières sont également résistantes à l'association sulfamides-triméthoprime. De même, 88% des E. coli résistantes au ceftiofur, aux tétracyclines, à l'association sulfamide-triméthoprime,

À la gentamicine et au florfénicol sont également résistantes aux fluoroquinolones. Ces constatations sont inquiétantes car le fait d'utiliser un antibiotique ancien, tel que les tétracyclines, peut favoriser la sélection de résistances aux antibiotiques critiques en sélectionnant ces bactéries **multirésistantes** sans pour autant utiliser des antibiotiques de nouvelle génération. Ceci prouve que les études menées sur l'antibiorésistance et l'utilisation des antibiotiques ne doit pas se focaliser uniquement sur les antibiotiques de dernière génération et que tous les antibiotiques doivent être pris en compte pour la mise en place des mesures de bonnes pratiques d'usage.(3)

3.2.3 Mesure de la résistance bactérienne (3,

La cible pharmacologique d'un antibiotique est la bactérie pathogène. Pour qu'un antibiotique soit actif, il faut donc que cette dernière soit présente et accessible. L'effet de l'antibiotique est variable selon concentration : ralentissement de la croissance bactérienne (effet sub-inhibiteur), inhibition de la croissance (effet bactériostatique) jusqu'à la mort de la bactérie (effet bactéricide).

3.2.3.1 Méthode de mesure de la résistance bactérienne

La **concentration minimale inhibitrice** (CMI) permet d'étudier *in vitro* la pharmacodynamie des antibiotiques sur une population bactérienne La CMI représente la première concentration en antibiotique pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée. Deux types de méthodes : une méthode qualitative de KIRBY et BAUER (dite méthode des disques) et les méthodes quantitatives (dites : méthodes de dilution et E.test)

. La mesure de la CMI est souvent accompagnée de la mesure concentration minimale bactéricide (CMB). Elle correspond à la concentration permettant de réduire la population bactérienne d'un facteur 1000. Les mesures des CMI et des CMB sont dépendantes des conditions de cultures de la bactérie. Les conditions de déterminations de ces indicateurs ont donc été calibrées et standardisées. Ensuite, **des antibiogrammes peuvent être réalisés**.Leur interprétation repose sur l'évaluation de la CMI en fonction du diamètred'inhibition. Ces outils permettent de prédire la sensibilité des bactéries aux antibiotiques en matière d'efficacité clinique. Ainsi, une souche pathogène peut être catégorisée cliniquement de sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R). L'antibiogramme sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne, et peut orienter l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles

. Dans la pratique quotidienne, les souches déclarées **sensibles** » sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement systémique et aux posologies habituellement recommandées. Les souches **résistantes**sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique, quel que soit le schéma thérapeutique utilisé. Enfin, entre ces deux catégories se place la catégorie « **intermédiaire** » qui prend en compte les situations incertaines dans lesquelles le succès du traitement est imprévisible.

Différents outils moléculaires **PCR**sont actuellement utilisés pour la détection et la caractérisation des gènes et des mutations impliqués dans la résistance aux antibiotiques. Ces gènes de résistance aux antibiotiquessont situés soit sur des structures auto-réplicatives autonomes (de type plasmides), soit sur le chromosome(3)

3.2.3.2 Paramètres pharmacodynamiques

Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme la plus petite concentration capable, in vitro, d'empêcher pendant 18 à 24h la croissance macroscopique d'un inoculum standard de 10^4à 10^6bactéries/ml. Par :

Méthode de dilution de milieu liquide ou solide : on dispose d'une série de tubes contenant des concentrations décroissantes d'antibiotique (dilution par deux) et un milieu de culture. Ces tubes sont ensemencés avec un inoculum standard (104 à 106 bactéries/ml), et mis en culture à 37°C pendant 18 à 24h. La CMI correspond à la concentration dans le tube, où l'on ne peut observer à l'oeil nu de croissance bactérienne

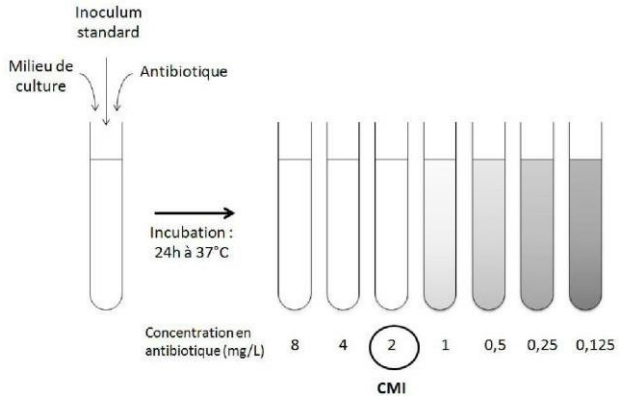


figure Détermination de la CMI par méthode de dilution en milieu liquide

Méthode de diffusion sur disque : dans une boite de pétri, une gélose est ensemencée avec le germe d'intérêt. Des disques imprégnés de diverses concentrations d'antibiotiques, connues, y sont répartis. Les géloses sont incubées pendant 24h à 37°C. On observe alors un disque d'inhibition de la croissance bactérienne. Le diamètre de ce disque doit être mis en relation avec les CMI obtenues par dilution grâce à une courbe de concordance définie pour une concentration en antibiotique donnée

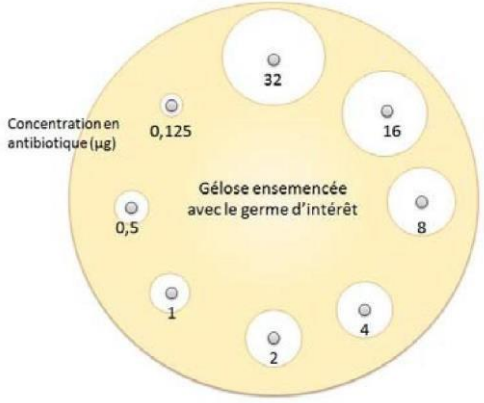
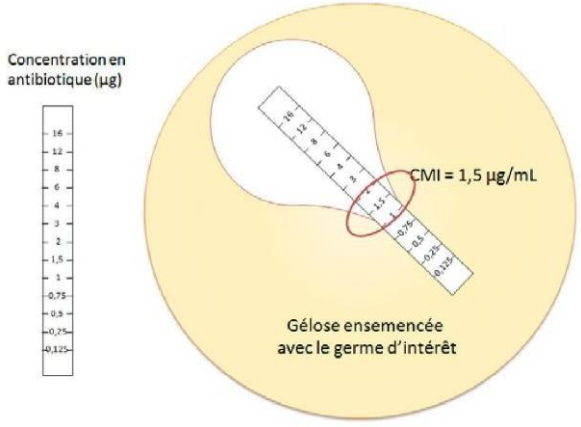


Figure :Détermination de la CMI par méthode de diffusion sur disque



3°- L'E-test : on dispose d'une boite de pétri gélosée que l'on ensemence avec le germe d'intérêt. On y dépose une bandelette imprégnée d'un gradient de concentrations d'antibiotique. Le tout est incubé pendant 24h à 37°C. Il suffit alors de lire sur la bandelette la CMI

Détermination de la CMI par E-test. (Cazajeux, 2015)

A partir des CMI, il est possible de classer les bactéries en trois catégories : sensible, intermédiaire ou résistante.

La connaissance des CMI permet une surveillance épidémiologique de l'apparition des résistances dans les populations bactériennes, en étudiant la distribution des CMI et son évolution au cours du temps.

La concentration minimale bactéricide (CMB) est définie comme la plus petite concentration capable, *in vitro*,d'entrainer la mort d'un pathogène. En pratique, il s'agit de la concentration capable de réduire de 3 log un inoculum standard de 106 bactéries en 18 à 24h. Pour les antibiotiques bactéricides, la CMI et la CMB sont proches de cette valeur. Pour les antibiotiques bactériostatiques, elle est en général trop élevée, et ne serait pas atteignable *in vivo*.Elle est au final peu utilisée**.**

Concentration Préventive de Mutants (CPM)

La concentration préventive de mutants (CPM) est la concentration d'antibiotique capable d'empêcher la sélection de la sous-population résistante dans un inoculum. Il s'agit en fait de la CMI des mutants de premier ordre (bactéries qui ne possèdent qu'un seul mécanisme de résistance). En pratique, elle se mesure de la même manière qu'une CMI, mais l'inoculum initial est plus important (>109 bactéries). Son intérêt réside dans le fait que la probabilité d'apparition d'un double mécanisme de résistance dans une population sauvage est très faible. Ainsi, en éliminant les mutants de premier ordre, on empêche l'apparition de bactéries hautement résistantes (présentant plusieurs mécanismes de résistance

3.2.4 Mise en évidence de l'antibiorésistance (antibiogramme et techniques génétiques)

La mise en évidence de l'antibiorésistance et de son support se fait par l'utilisation de l'antibiogramme et à travers des techniques génétiques

3.2.4.1 Utilisation d'antibiogrammes

La méthode par diffusion sur gélose est plus utilisée car elle permet de déterminer la CMI d'une souche bactérienne vis-à-vis de plusieurs antibiotiques à la fois sur une seule boite. C'est la mesure des diamètres d'inhibition qui permet d'avoir accès aux CMI de la souche bactérienne.

L'obtention des CMI permet de classer la souche bactérienne dans l'une des trois catégories suivantes :

- (**S**) : souche Sensible à l'antibiotique testé,
- (**R**) : souche Résistante à l'antibiotique testé,
- (**I**) : souche de résistance Intermédiaire à l'antibiotique testé.

La classification d'une souche bactérienne dans l'une de ces catégories est obtenue en comparant le diamètre d'inhibition à des diamètres critiques (inférieur ou supérieur), propres à chaque antibiotique. Les CMI obtenues peuvent également être comparées à des concentrations critiques propres à chaque antibiotique dans cette même optique.

Pour que les antibiogrammes soient interprétables, il convient de respecter un certain nombre de précautions lors de la réalisation de ceux-ci précisées par mêmes organisations spécialisées.

Les antibiogrammes permettent de détecter à la fois les résistances naturelles, dépendant du spectre d'action d'un antibiotique et les résistances acquises. La comparaison simple du profil ainsi obtenu pour la souche bactérienne étudiée avec le profil habituel des autres souchesde la même espèce permet de déterminer si la résistance est naturelle (classique et retrouvée chez toutes les souches) ou si elle est acquise.

3.2.4.2 Techniques génétiques

La résistance d'une souche bactérienne aux antibiotiques peut être due soit à l'absence de cible de l'antibiotique, soit à la présence de **gène de résistance**,soit à la modification de gène intervenant dans la perméabilité ou les transports membranaires. Par conséquent, quand ces **gènes** ou ces **modifications génétiques** sont connus pour une espèce bactérienne donnée, il est possible de les rechercher chez une souche étudiée grâce à des outils moléculaires.

L'**outil moléculaire** le plus utilisé est l'amplification en chaine par la polymérase ou Polymerase Chain Réaction (**PCR**). L'intérêt de la PCR est double : elle permet la mise en évidence chez la souche étudiée d'un gène de résistance connu, mais elle peut également permettre à l'échelle d'une population l'estimation de la prévalence de ce gène

L'étude des mécanismes de la résistance aux antibiotiques a permis l'identification de déterminants génétiques responsables des phénomènes de résistance observés. Dans tous les cas, l'acquisition d'un mécanisme de résistance aux antibiotiques repose soit sur :

• Un transfert horizontal de gènes (intégrons, transposons, plasmides) ;

• Une mutation d'un gène chromosomique ou plasmidique.

La résistance aux antibiotiques est donc détectable avec les méthodes génétiques ; celles-ci détectent des gènes reconnus à l'origine d'un mécanisme de résistance. Cette détection se fait soit par hybridation, soit par amplification (PCR) et détection de l'amplicon obtenu. La détection de ces gènes permet l'étude de l'épidémiologie de la résistance chez les *E. coli* en apportant des connaissances soit sur l'accumulation (intégrons) soit sur la dissémination de ces gènes au sein de cette population bactérienne. Les déterminants génétiques suivants de résistance aux antibiotiques sont décrits et peuvent être utilisés pour l'étude de la résistance aux antibiotiques chez les *E. coli* :

• Des intégrons porteurs de déterminants de résistance aux aminoglycosides ;

• Des plasmides porteurs de déterminants génétiques de résistance aux tétracyclines ;

• Des mutations du gène de l'ADN gyrase associées aux résistances aux fluoroquinolones ;

• Des gènes codant pour synthèse de pompes à efflux

La détection des gènes de résistance ne nécessite pas d'isoler le micro-organisme en culture pure. La possibilité de travailler directement sur les prélèvements (cliniques, animaux ou environnementaux) permet un gain de temps pour l'analyse tout en diminuant les risques pour le manipulateur qui n'est pas en présence d'une culture pure du micro-organisme.

Les méthodes génétiques ne dépendent pas des conditions de culture des microorganismes. Elles permettent également la détection de mécanismes qui entrainent un faible niveau de résistance qui n'est pas toujours observable avec les méthodes phénotypiques. Enfin, elles fournissent une réponse claire : présence ou absence du déterminant génétique recherché. De plus, tous les gènes impliqués dans la résistance ne sont pas connus. Enfin, les méthodes génétiques permettent de confirmer l'existence de mécanismes de résistance spécifique et d'un point de vue épidémiologique, d'analyser la dissémination de pathogènes spécifiques résistants ou de déterminants de résistance**(3)**

4 Références revue bibliographique

1-Le Minor et Veron (1989). Bactériologie médicale, Sciences Flammarion, 1989, 1107 pages.

2- Lezzar nawel (2006). Influence d'un traitement oral à la Fluméquine sur la résistance aux quinolones des souches d'*Escherichia coli* dans la flore fécale du poulet de chair.Thèse de Magister Vétérinaire. Institut des Sciences Vétérinaires. Université de Constantine 1, Algérie, 254p.

3-Lezzar Nawel (2017). Etudes comparatives des souches d'*Escherichia coli* aviaires et humaines. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Institut des Sciences Vétérinaires. Université de Constantine 1, Algérie, 340p.

4-FLAUDROIS JP. (2004). BactérioGéné/croissance bactérienne. Cours de Bactériologie Médical DCEMI, UFR Médecine Lyon Sud-laboratoire de Biométrie .Pages 1-3-10

5-Bergey &#39 ; s manual 2012.

6-Jean-Philippe. Lavigne www.microbesedu.org/etudiant/staph.html.

7.MAINIL, J. 2003. Facteur de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives D'Escherichia coli : Franchissement des muqueuses et propriétés invasives. Ann. Vét. 94 : 159- 165

8.SZALOIM.M., TAMINIAU.B., MAINIL.J 2006. Le lipopolysaccharide d'Escherichia coli structure, biosynthèse et rôle. P : 108-124.

9-BRUGERE-PICOUX J, BOUZOUIAIA M, VAILLANCOURT J, SHIVAPRASAD H, VENNE D. Manuel de Pathologie aviaire. Paris: AFAS, 701p

10-GROSS, W.B., 1991 Colibacillosis: Deseases of poultry, Ed. Iowo State University Press, Ames, Iowo 138-144

11-LECOANET, J., 1992 Colibacilloses aviaires Dans Manuel de Pathologie Aviaire. Imprimerie du Cercle des Elèves de l&#39 ; Ecole Nationale Vétérinaire d&#39 ; Alfort. Ed. Par J. BrugèrePicoux et A Silim, 237-240.

12-STORDEUR P et MAINIL J., 2002 La colibacillose aviaire. Ann. Méd.Vét., 146, 11-18.

13-Mellata M., 2003 Rôle des facteurs de virulence des E. coli pathogènes Aviaires dans la colibacillose. Thèse (PhD): Univ. Montréal, 2.

14- DHO-MOULIN M., FAIRBROTHER J.M., 1999 Avian pathogenic Escherichia coli (APEC). Vet.

15- PARREIRA V.R., ARNS C.W., YANO T., 1998 Virulence factors of avian Escherichia coli associated with swollen head syndrome. Avian Pathol., 27 :148-154.

16 Courvalin P. et Philippon A. (1989). Chapitre 14 : Mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne aux agents antibactériens. Bactériologie Médicale, 2ème édition, Médecine-Sciences/Flammarion, 1989, 332-355.

17- CEVA : antibiothérapie raisonnée en élevage avicole

18- TOUTAIN P. (2012). Des vieux antibiotiques ou des antibiotiques innovants pour la médecine vétérinaire ? Bulletin des GTV., 64, pp. 38-42.

PARTIE EXPERIMENTALE

INTRODUCTION

Les colibacilloses aviaires constituent des pathologies importantes dans les élevages industriels .Considérées comme des maladies de surinfection, elles entrainent souvent des mortalités dans le cheptel aviaire avec des conséquences économiques pouvant être très importantes. Pour pallier à ces pertes, les antibiotiques ont été utilisés à titre curatif mais également préventif et le plus souvent de façon anarchique aboutissant à une sélection de germes résistants. L'émergence et la diffusion des souches résistantes ont un impact considérable, aussi bien en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine, constituant un réel problème de santé publique**.**

Objectif

L'objectif de ce travail est l'étude de l'antibiorésistance des souches d'*E.coli,* isolées à partir d'écouvillonnages cloacaux effectués sur des poulets de chair, dans la région de Constantine.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Matériels

L'étude s'est déroulée au niveau du laboratoire de Microbiologie du CHU Benbadis de Constantine du 16 juin 2019 au 30 octobre 2019 pour effectuer l'isolement, l'identification et les tests de sensibilité aux antibiotiques, des souches bactériennes d'*E.coli*.

La collecte des échantillons a été effectuée au niveau de l'Unité de Production Chair (UPC) Benboulaid de Constantine, qui abrite un cheptel de 6000 poulets de chair, de race Cobb 500, traités préventivement contre les surinfections bactériennes durant les 5 premiers jours avec de l'enrofloxacine, de 10 à 14 jours avec de la colistine, et avec les tétracyclines de 30 à 35 jours.

Figure 1 : Elevage intensif de poulet de chair

Les fientes ont été prélevées sur des sujets âgés de 21 jours, indemnes de colibacilloses, à raison de 5 prélèvements par jour, du 21ème au 30ème jour de vie pendant 20 jours (Juin-Juillet 2019) par écouvillonnage cloacal. Chaque prélèvement est numéroté et daté. Un total de 100 prélèvements a été retenu pour l'étude.

Figure 2 : Prélèvement par écouvillonnage cloacal

1.2. Méthodes

L'isolement, l'identification et les tests de sensibilité aux antibiotiques (ou antibiogramme), des souches bactériennes d'*E.coli*sont effectués selon l'ordre chronologique suivant :

- **Jour 1**

Les échantillons prélevés sont immédiatement acheminés au laboratoire pour être enregistrés et traités le jour même.

Chaque écouvillon est plongé dans un milieu liquide d'enrichissement (Bouillon Cœur-Cervelle) de l'institut Pasteur et incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures.

- **Jour 2**

La culture sur bouillon Cœur-Cervelle se traduit par un trouble. Un ré isolement est effectué sur gélose Hektoen, par la technique des stries sur 4 quadrants, et incubé à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 H.

- **Jour 3**

Identification des colonies : A partir du milieu Hektoen, les colonies jaunes orangés, lactose positif (pour la recherche de *E.coli*), sont mises en suspension dans l'eau physiologique pour être ensemencées sur galerie biochimique classique (TSI, Mannitol- Mobilité, Citrate de Simmons, Urée-Indole). Une gélose nutritive est également ensemencée.

Figure 3 : Milieu TSI et Urée-Indole

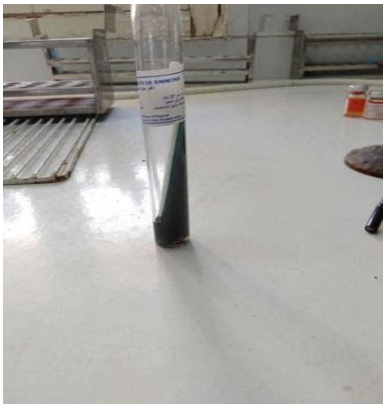


Figure 4 : Milieu Citrate de Simmons

Figure 5 : Gélose Nutritive

- ❖ Certaines colonies lactose négatif et oxydase négatif sont également ensemencées sur galerie biochimique (pour la recherche de salmonelles).

Jour 4

Identification de la souche isolée selon les résultats de la galerie biochimique et réalisation de l'antibiogramme :

Galerie biochimique :

- **TSI :**dans ce milieu, on observe :
  -Virage du rouge au jaune de la pente du milieu correspond à une utilisation du lactose par la bactérie, dite lactose+,
  -Décollement du culot de gélose ou présence de bulles indique une production de gaz, -
  Noircissement du milieu indique un dégagement de HS.
  2
- **Mannitol-Mobilité :**dans ce milieu, on observe : -
  Virage au jaune indique l'utilisation du mannitol, -
  La mobilité se traduit par un trouble du milieu.
- **Citrate de Simmons :** l'utilisation du citrate comme source de carbone se traduit par un virage du vert au bleu
- **Urée-Indole :** l'activité de l'uréase se traduit par une coloration rose du milieu initialement orange. L'ajout de 3 à 4gouttes de réactif de Kovacs révèle la production d'indole à partir du tryptophane se traduisant par un anneau rouge.

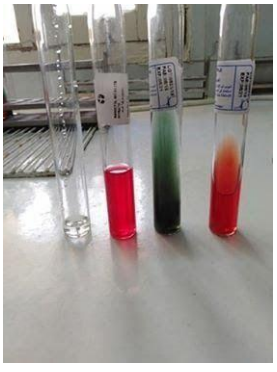


Figure 6 : Galerie biochimique témoin

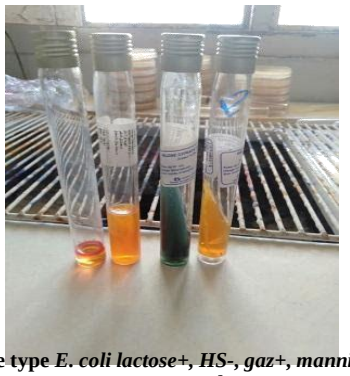


Figure 7 : Galerie biochimique type *E. coli lactose+, H_2S-, gaz+, mannitol+, mobilité-, urée-, indole+*

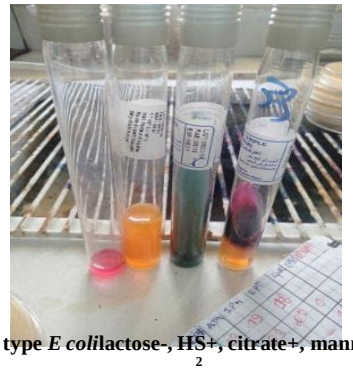


Figure 8 : Galerie biochimique type *E coli*lactose-, H_2S+, citrate+, mannitol+, mobilité-, urée+, indole+

Figure 9 : Galerie biochimique type *E coli*lactose+,H_2S+, citrate-, mannitol+mobilité-,urée-, indole-

Figure 10 : Colonies lactose + sur Hektoen

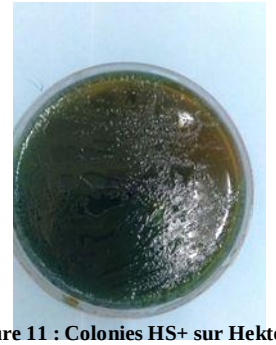


Figure 11 : Colonies HS+ sur Hektoen
[2]

Les galeries API 20E sont ensemencées à partir de la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur, dans les cupules des plaques

Figure 12 : Galeries API 20 E après incubation et après addition des réactifs

- **Sérotypage** des souches identifiées comme *E.coli* à l'aide des **antisérums *Escherichia coli***de Bio Rad disponibles au laboratoire.

- **Antibiogramme**.

A partir de la gélose nutritive, on s'assure de la pureté de la souche isolée ,2 ou 3 colonies serviront à la pratique de l'antibiogramme sur gélose de Muller-Hinton selon les recommandations du Référentiel National pour la standardisation de l'antibiogramme. L'opacité de l'inoculum bactérien est ajustée à 0,5 Mac Farland et ensemencé, à l'aide d'un écouvillon essoré sur les parois du tube, sur la surface de la gélose. Les antibiotiques sont déposés à l'aide d'un distributeur de disques sur la gélose. Les boites sont incubées pendant 18h à l'étuve à 37°C. Les antibiotiques de la famille des betalactamines, aminosides, fluoroquinolones, colistine, bactrim-sulfamethoxasol, cyclines, chloramphénicol, fosfomycine, fluméquine. Au total 19 antibiotiques ont été testés.

Figure 13 : Densité de Mac Farland

Tableau 1 : Liste des Antibiotiques testés pour les Enterobactéries (Lezzar, 2006 ; Lezzar, 2017).

Antibiotique	**Charge du disque (µg)**	**Code de l'antibiotique**	**Diamètre de zone d'inhibition*(mm) R ≤ I S ≥**
			19-26
Amoxicilline	25	AMX	
Amoxicilline/acide clavulanique	20/10	AMC	18-24
Ticarcilline	75	TIC	24-30
Pipercilline	100	PIP	24-30
Cefazoline	30	CZ	15-21
Cefoxitine	*30*	FOX	23-29
Cefotaxime	30	CTX	29-35
Aztréonam	30	AT	28-36
Ertapenem	10	ERT	29-36
Imipinem	10	IMP	26-32
Fosfomycine	**200**	**FOS**	**22-30**
Tetracyclines	**30**	**TE**	**18-25**
Gentamycine	**10**	**GM**	**19-26**
Amikacine	**30**	**AK**	**19-26**
Acide nalidixique	**30**	**NA**	**22-28**
Ciprofloxacine	**5**	**CIP**	**30-40**
Sulfamethoxazole-trimethoprime	**23.75/1.25**	**STX**	**23-29**
Colistine	**50**	**CT**	**11-17**
Chloramphenicol	**30**	**C**	**21-24**

*Pour *E.coli*25922 . R=résistante ;I=intermédiaire ;S=sensible. (Lezzar, 2006 ; Lezzar 2017)

Pour le contrôle de qualité, la souche de *E.coli*ATCC 25922 a été testée pour les mêmes antibiotiques.

- **Jour 5**

Lecture des antibiogrammes par la mesure très précise du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque antibiotique à l'aide d'un pied à coulisse, reporté sur la fiche conçue pour l'antibiogramme des Entérobactéries. Le résultat est exprimé en : souche sensible (S), intermédiaire (I) et résistante (R) selon le référentiel national (AARN) et les

recommandations de l'OMS. Une procédure identique est appliquée pour l'interprétation de *E.coli*ATCC 25922.

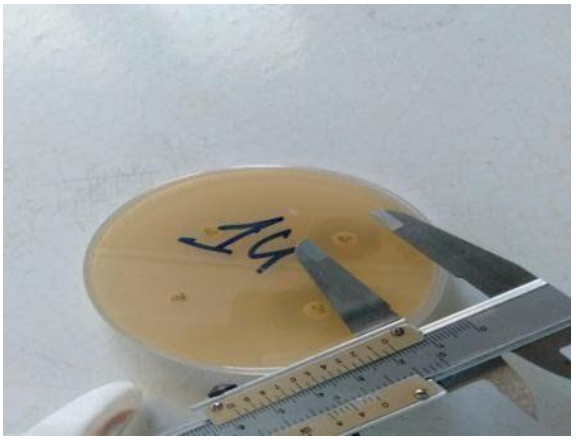


Figure 14 : Mesure du diametre d'inhibition

Figure 15 : Antibiogramme à j5

Figure 16 : Antibiogramme à j17

Remarque :

2 souches ont été identifiées par galerie API 20E (Bio Mérieux)

1souche identifiée par l'automate Micro ScanWalke Away 96 deSiemens.

Seules les 12 premières souches ont eu un antibiogramme après l'identification (j1 à j5). Par indisponibilité des disques antibiotiques au niveau du laboratoire, nous avons conservé toutes les souches sur gélose de conservation (Institut Pasteur, Bio-Rad) L'ensemencement s'est fait par piqure centrale avec conservation à température ambiante. Le souchier ainsi constitué et conservé, nous a servi dans un 2ème temps à faire les antibiogrammes (de septembre à fin octobre) selon la méthode décrite ci-dessus.

2. RESULTATS

Identification des souches isolées

100 échantillons de fiente ont été prélevés par écouvillonnage cloacal sur des poulets de chair âgés de 21 à 30jours. Les méthodes d'identifications ont permis de retrouver parmi les entérobactéries isolées une prédominance très nette de souches présentant le profil biochimique suivant :

« Glucose (+), lactose (+), mannitol (+), mobilité (-), urée (-), indole (+), citrate (-) » correspondant à « *E. coli* ».

Répartition des souches isolées :

- ✔ E.coli :86
- ✔ Proteus :6
- ✔ Enterobacter : 4
- ✔ Citrobacter : 2
- ✔ Klebsielle : 2

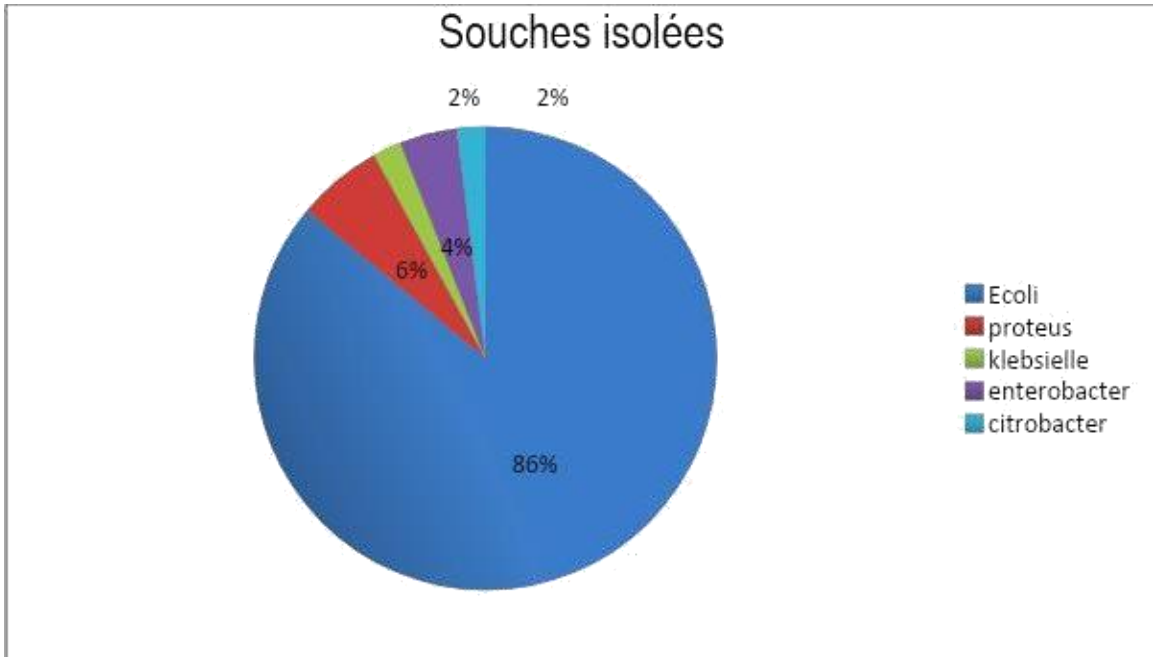


Figure 17 : Répartition des souches isolées

Sérotypage des*E.coli*.

Les sérums non-valents, trivalents et monovalents anti « o » n'ont pas donné de résultats positifs.

Profil des E. coli isolées vis à vis des 19 antibiotiques testés

Tableau 2 : Profils de sensibilité et résistance des *E.Coli*isolées

NumérodeSouchen=100	Age(j)	AMX	AMC	CZ	FOX	CTX	TIC	PIP	IMP	ERT	FOS	TET	GM	AK	NA	CIP	CL	C	UB	STX
1	21	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
2	21	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
3	21	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	R	R
4	21	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
5	21	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
6	22	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	R	R
8	22	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R
9	22	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
10	22	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
11	23	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R	S	S	R	R
12	23	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
13	23	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
15	23	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R

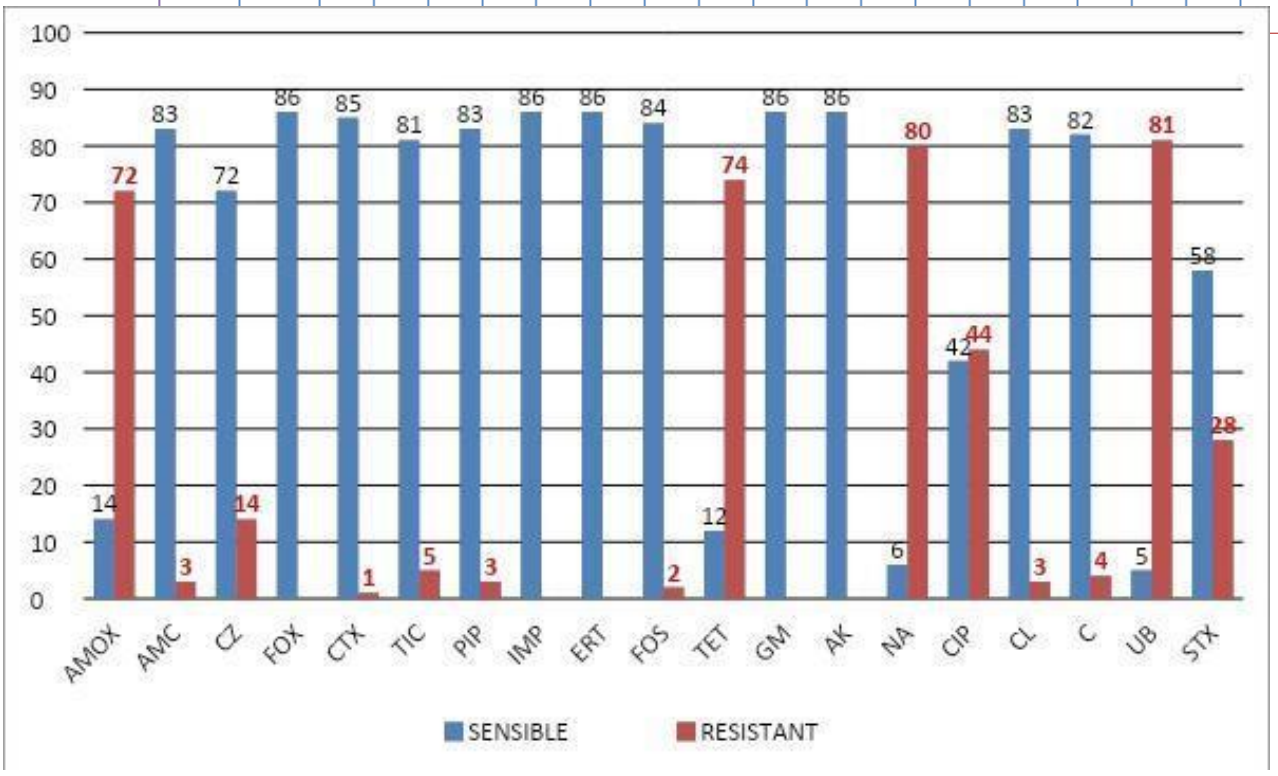
16	24	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
17	24	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
18	24	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R
19	24	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	R	S
20	24	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
21	25	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S
23	25	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
25	25	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
27	26	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R
28	26	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
30	26	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
31	27	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S
32	27	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R
33	27	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	R	R
34	27	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
35	27	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
38	28	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
39	28	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R
41	29	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R
42	29	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R
43	29	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S
44	29	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S
45	30	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
46	30	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
49	30	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
50	21	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
51	21	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	R	R	R
52	21	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S
53	21	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
54	21	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
55	22	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	R	S
56	22	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
57	22	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
58	22	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
59	22	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
60	23	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
61	23	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
62	23	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S
63	23	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
64	23	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
65	24	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
66	24	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R
67	24	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
68	24	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
69	24	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
71	25	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
72	25	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
73	25	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
74	25	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
75	26	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R
77	26	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R
78	26	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R
79	26	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R
80	27	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R
81	27	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S
82	27	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
83	27	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
84	27	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
85	28	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
86	28	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
87	28	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
88	28	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
89	28	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
90	29	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
91	29	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S
92	29	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S
93	29	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	R	R	R
94	29	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
95	30	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
96	30	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S

97	30	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	R	R	S
98	30	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
99	30	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S
100	30	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R

Remarque:* l'enrofloxacine n'a pas été testée par manque de disques.

*Les souches intermédiaires ont été déclarées résistantes.

*Contrôle de qualité fait par *E. coli*25922.



Graphe : Repartition des souches de E coli selon la sensibilité et résistance

Tableau Sensibilité et Résistance de *E.coli*(n=86)

ANTIBIOTIQUES	SENSIBLE	RESISTANT
AMX	14	72
AMC	83	3
CZ	72	14
FOX	86	0
CTX	85	1
TIC	81	5
PP	83	3
IMP	86	0
ERT	86	0
FOS	84	2

TET	12	74
GM	86	0
AK	86	0
NA	6	80
CIP	42	44
CL	83	3
C	82	4
UB	5	81
STX	58	28

Les souches isolées sont résistantes à un ou plusieurs antibiotiques. Plusieurs phénotypes sont détectés.

Le plus fréquemment retrouvé est de: type AMOX-TET-NA-UB-CIP-STX.

Parmi les familles d'antibiotiques, on retrouve :

- Beta lactamines : AMOX-AMC-CZ-CTX-PIP-TIC.
  3 souches sont de type BLSE (AMC-CTX)
- Quinolones: NAL- UB-CIP
- Cyclines : TET
- Sulfamides/trimethoprime : STX
- Colistine: 3 souches résistantes.
- Aminosides : toutes les souches sont sensibles.

Les souches résistantes ont été isolées indépendamment de l'âge du sujet, du 21èmeau 30èmejour.

3. DISCUSSION

Les résultats retrouvés dans notre étude sont concordants avec ceux retrouvés par divers auteurs :

- En Algérie, Lezzar (en 2006 puis en 2017), retrouve des fréquences élevées de résistance de *E. coli* isolés de poulet de chair de la région de Constantine, en particulier AMO et AMX-CZ-TET-NAL-CIP-UB-STX- avec 13 souches BLSE et 7 souches résistantes à la Colistine (Lezzar 2006 ; Lezzar 2017). Aggade et al (en

2010), retrouve des résistances pour EN (enrofloxacine) 45%, TET (Tetracyclines) 87%, STX (Trimethoprim/Sulfamethoxazole) 70%, Colistine 13%.

- En Tunisie, Abbassi et al. (en 2017), retrouve, un taux de 74% pour TET et 57% pour AMX et STX.

- Au Maroc, Hafed et **al**.(en 2014), retrouve, des taux de résistance de E. coli isolé de poulet de chair, pour AMX 88,2%, TET 97%, Fluoroquinoles 76% et Colistine 12,5%.

- En France, l'ANSES (en 2018), retrouve une baisse de la résistance pour tous les antibiotiques surtout AMX, Gentamicine, une stabilité pour les Quinolones et Cyclines, due à une prescription adaptée des antibiotiques et une surveillance stricte de la résistance par la pratique des antibiogrammes. Cependant, la Colistine fait l'objet d'une surveillance accrue à cause de l'apparition d'un plasmide de résistance et compte tenu de son utilisation en médecine humaine en dernier recours en cas de bactéries multi résistantes.

CONCLUSION

La colibacillose aviaire est très fréquente et surtout très redoutée en élevage aviaire ; Compte tenu de leur conséquence économique, la thérapeutique implique quasi systématiquement l'usage d'antibiotique, or cet usage systématique des antibiotiques peut avoir de graves conséquences comme l'apparition de souches résistantes dans une filière destinée à la consommation humaine.

Les échecs thérapeutiques sont de plus en plus redoutés dans la filière avicole, causant d'importantes pertes économiques, d'où la nécessité de la réalisation d'un antibiogramme.

Les tétracyclines sont les molécules les plus anciennement utilisées en médecine aviaire, ce qui a conduit à une baisse de leur efficacité. Elles sont remplacées par les quinolones de 3ème génération, telle que l'enrofloxacine, molécule à large spectre d'action, au prix relativement bas, mais sélectionnant rapidement des résistants.

La Colistine reste l'antibiotique qui est le moins sujet au développement de résistance et efficace contre les *E.Coli*.Toutefois, son action est locale et n'agit pas sur les colibacilloses systémiques, pour cela il est préférable de l'utiliser en association avec l'enrofloxacine afin d'élargir sa distribution et lutter contre l'apparition de mutants résistants à la lumière des dernières études, menées par CEVA.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

3. Brugere-Picoux J, Bouzouiaia M, Vaillancourt J, Shivaprasad H, Venne D. (2015). Manuel de Pathologie aviaire. Paris: AFAS, 701p.
4. Guerin, J, Balloy D, Villate D. (2016). Maladies des volailles, Paris: France agricole, 576p.
5. CEVA : antibiothérapie raisonnée en élevage avicole.
6. Le Minor et Veron (1989). Bactériologie médicale, Sciences Flammarion, 1989, 1107 pages.

7. Courvalin P. et Philippon A. (1989). Chapitre 14 : Mécanismes biochimiques de la résistance bactérienne aux agents antibactériens. Bactériologie Médicale, 2ème édition, Médecine-Sciences/Flammarion, 1989, 332-355.
8. Lezzar nawel (2006). Influence d'un traitement oral à la Fluméquine sur la résistance aux quinolones des souches d'*Escherichia coli* dans la flore fécale du poulet de chair. Thèse de Magister Vétérinaire. Institut des Sciences Vétérinaires. Université de Constantine 1, Algérie, 254p.
9. Lezzar Nawel (2017). Etudes comparatives des souches d'*Escherichia coli* aviaires et humaines. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Institut des Sciences Vétérinaires. Université de Constantine 1, Algérie, 340p.
10. Aggad H., Ammar Y.A., Hammoudi A. et Kihal M. (2010). Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Chickens with Colibacillosis. Global Veterinaria, 4 (3): 303-306
11. Abbassi et al.(2017) Journal of clinical microbiologie ans biochimical Technology,(3) :19-22
12. Hafed et **al**. (2014) Américain Journal of innovation Research ans Applied Sciences,(2) : 50-54
13. ANSES (2018). Journée « Antibiorésistance en santé animale et dans l'environnement». Journée du 13 Novembre 2018. Espace Diderot – Paris 12e