

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2018

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

BERADAI Zohra Amel & BOUHALI Raihana

Thème

Isolement et étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'Escherichia coli de poulet de chair de la région de Bouira

Soutenu le : 25 /06 / 2018

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme MESSAD Sara</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme BENBARA Tassadit</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>M. BARA Mouslim</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2017/2018

Remerciement

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir accordé la foi, le courage, la santé et les moyens de conception de ce modeste travail

Nous tenons à gratifier les membres de jury « **Mm. MESSAD Sara et M. BARA Mouslim** » pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.

Nous adressons des remerciements particuliers à notre encadreur Madame « **Benbara Tassadit** » qui nous a dirigées au cours de cet ambitieux travail. Son esprit critique et ces judicieux conseils ont grandement facilité la réalisation de cette étude. Nous vous remercions d'avoir mis à notre disposition tous les moyens nécessaires pour mener à bien ce modeste travail. Nous vous prions de trouver ici l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect.

Tous les éleveurs qui ont accepté de répondre à notre questionnaire sur leurs élevages et de faire les prélèvements, qu'ils reçoivent ici l'hommage de notre vive reconnaissance.

Nous tenons également à remercier tout le personnel des laboratoires de notre faculté pour leur aide durant le stage.

Au Docteur vétérinaire AHMED et Monsieur LARABI pour leur contribution en matière de ressources dans la rédaction de la partie bibliographique.

A tout les enseignants du département des Sciences de la nature et de vie à Bouira

Hommages reconnaissants.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

Au Dieu à qui j'adresse mes remerciements par sa grâce infinie et leur offre à moi.

A ma source de puissance, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie « **mon père** ». Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi. Que DIEU vous accorde longue vie et prospérité.

A l'étoile et la flamme qui guide ma vie **Ma mère**, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie. Que Dieu vous accorde longue vie et prospérité.

A mes sœurs **Lamia, Ferial, Khawla, Radia** et mon petit ange **Malouka** qui n'ont cessé d'être pour moi le germe de persévérance de courage et de générosité.

A mon fiancé **Abdou** merci pour : ta confiance, ta disponibilité tes conseils, et tous ton soutien m'ont aidé de mener a bien ce travail.

A **Zohra**, l'amie de tous les temps : merci, chère amie, pour tes conseils, ton soutien, pour les inoubliables et magnifiques moments avec toi et pour le sens particulier que revêt notre amitié

A **Aicha** ma copine des 4 ans : merci pour ton soutien, pour l'encouragement qui tu ma donner tout le temps, pour les bon et mal moment quand tu es à coté de moi et merci pour tous.

A mon feu grand père "**Mohamed**" et ma grand mère "**Zineb**" Je prie DIEU le tout Puissant, le Clément et le Miséricorde dieux pour que vos âmes reposent en paix Amen

A mon grand père "**Ihadje Boudjmeline**" et ma grande mère "**Zineb**", Que DIEU vous accorde longue vie et prospérité

A tous mes oncles, tantes et cousins, merci de votre présence et de votre soutien.

A tous ceux et celles qui ont croisé ma route et qui ont laissé leur empreinte dans ma vie.

Rgihana

Dédicace

Ce mémoire n'aurait pas pu aboutir sans la bénédiction du Bon Dieu, qui nous a donné le courage et la volonté pour réaliser ce travail et qui a entendu nos prières.

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir à toi
mon père.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur ma vie et mon bonheur ; **maman** que j'adore.*

*A mes frères **Zohir, Ahmed** et **Mahdi** qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.*

*A mon petit neveu **Wassim***

*A mes sœurs de cœur **Raihana, Ahlem, Rym, Meriem***

*A mon grand-père, mes oncles et tantes, à mes cousins et cousines **Alya , Rym, Chaima, Miled, Faiza, Houda, Sabrina, Yasmine, Asma, Anfel et Fella***

*A mon binôme **Raihana** pour sa bonne humeur et pour les moments jamais inoubliables, Une sœur d'une autre mère*

Je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes cotés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études, mes aimables amies Aicha, Amel, Nesrine, Cylia, Sara, Hanane, mes collègues d'études, mes frères et sœurs de cœur et mes professeurs.

Aux personnes qui nous a aidées à faire le prélèvement Larabi, Ali, Chahra et Farouk

*Tous les mérites reviennent à notre promoteur « **Mm Benbara** » qui nous a guidées et éclaircies avec ses précieux conseils et sa grande expérience
Enfin, je dédie ce mémoire à tous ceux qui nous ont aidées de près ou de loin à achever ce modeste travail.*

Zohra Amel

Liste des abréviations

- ❖ **AFSSA** : Agence française de la Sécurité Sanitaire des Aliments
- ❖ **APEC** : Pathogènes Aviaires *E. coli*
- ❖ **BMR** : Bactérie Multi-Résistante
- ❖ **BN** : Bouillon Nutritif
- ❖ **CMB** : Concentration Minimale Bactéricides
- ❖ **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- ❖ **CMV** : Compléments Minéraux et Vitaminés
- ❖ **EMB**: Eosine Methylene-Blue
- ❖ **GN** : Gélose Nutritive
- ❖ **MH** : Mueller Hinton
- ❖ **M**: Malade
- ❖ **OMS** : *Organisation Mondiale de la Santé*
- ❖ **P** : *Poulailler*
- ❖ **S** : Sujet
- ❖ **S** : Sain
- ❖ **SFM** : Société Française de Microbiologie
- ❖ **TSA** : Trypto Soja Agar
- ❖ **TSI** : Triple Sugar Iron

Liste des figures

Figure 01: Les prélèvements réalisés.....	p16
Figure 02 : Boîtes de Pétri contenant de gélose EMB.....	p16
Figure 03 : Tubes d'Eppendorf contenant de bouillon nutritif.....	p17
Figure 04: Préparation du frottis.....	p18
Figure 05: Test de catalase.....	p18
Figure 06 : Tubes à Citrate de Simmons.....	p18
Figure 07 : Tube à gélose TSI.....	p19
Figure.08 : Boîtes de Pétri à gélose « TSA+ Sang frais ».....	p20
Figure 09 : Boîtes de Pétri à gélose nutritive.....	p20
Figure 10 : Tubes remplis avec de l'eau physiologique.....	p21
Figure 11 : Boîtes d'antibiogramme.....	p21
Figure 12 : Vue interne des poulaillers 3 et 4 successivement.....	p24
Figure13 : Aspect des colonies des souches d' <i>E.coli</i>	p30
Figure14: Colonies Gram négatives de forme coccobacille observées au MO(X 100).....	p30
Figure15 : Bactéries à catalase positive.....	p30
Figure 16 : Résultats du test de Citrate de Simmons.....	p31
Figure17: Résultat du test mannitol-mobilité.....	p31
Figure 18: Résultats de test TSI.....	p32
Figure19: Répartition des germes isolés et leurs fréquences relatives.....	p32
Figure20: Résultats de test d'hémolyse.....	p33
Figure 21 : Le pourcentage de la résistance au CD ₂	p36
Figure 22 : Le pourcentage de la résistance au NA ₃₀	p36
Figure 23 : Le pourcentage de la résistance à l'OF ₅	p37
Figure 24 : Le pourcentage de la résistance à CEP ₃₀	p38
Figure25: Résultats d'antibiogramme.....	p39

Liste des tableaux

Tableau01: Les sites de prélèvement.....	p14
Tableau02 : liste des antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.....	p20
Tableau03: Résultats d'analyse des fichiers d'enquête.....	p21
Tableau04: Résultats d'isolement de la souche <i>E.coli</i> des sujets sains et malades du premier poulailler.....	p25
Tableau05: Résultats d'isolement de la souche <i>E.coli</i> des sujets sains et malades du deuxième poulailler.....	p25
Tableau06: Résultats d'isolement de la souche <i>E.coli</i> des sujets sains et malades du troisième poulailler.....	p26
Tableau07: Résultats d'isolement de la souche <i>E.coli</i> des sujets sains et malades du quatrième poulailler.....	p27
Tableau08: Résultats d'isolement de la souche <i>E.coli</i> des sujets sains et malades du premier poulailler.....	p27
Tableau09: Résultats d'isolement de la souche <i>E.coli</i> des sujets malades du tout les poulaillers.....	p28
Tableau10: Résultats des tests d'identification des souches isolées.....	p31
Tableau 11: Résultats de résistance des souches d' <i>E.coli</i> testées.....	p34
Tableau12: les pourcentages de la résistance pour chaque antibiotique des souches sains et malades des 5 poulaillers.....	p35

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie théorique

CHAPITRE I : Infections à *Escherichia coli*

1. Généralités d' <i>Escherichia coli</i>	2
1.1 Classification	2
1.2. Morphologie	2
1.3 Propriétés culturelles.....	2
1.4 Caractères biochimiques.....	2
1.5 Propriétés biologiques.....	3
1.6 Pathogénie	3
1.7 Epidémiologie	4
2. Les infections à <i>E. coli</i>	4
2.1 Transmission	4
2.2 Facteurs favorisant la propagation de la maladie	5
2.3 Symptômes généraux	5
2.4 Manifestations cliniques	5
2.5 Traitement.....	8
2.6 Prévention.....	8

Chapitre II : Résistance aux antibiotiques

1. Quelques définitions.....	9
1.1 Antibiotique	9
1.2 L'antibiothérapie	9
1.3 Concentration minimale bactéricides (CMB)	9
1.4 Concentration minimale inhibitrice (CMI)	9
1.5 Spectre d'activité d'un antibiotique	9
2. La résistance aux antibiotiques.....	9
3. La résistance aux antibiotiques chez <i>Escherichia coli</i>	10
4. Les antibiotiques et l'antibiorésistance dans l'élevage avicole.....	10
4.1 Usages des antibiotiques	10
4.2 Quelques familles d'antibiotiques soumis à prescription vétérinaire et utilisés en aviculture.....	11

4.3 Choix d'antibiotique.....	12
5. L'antibiogramme.....	12
6. Mécanisme de résistance.....	12
6.1. Modification de la cible	12
6.2. Antibiotiques à flux actif.....	13
6.3. Modification ou destruction de l'enzyme.....	13
6.4. Imperméabilité membranaire	13

Partie pratique

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Matériel.....	14
2. Méthodes.....	15
2.1 Sites de prélèvement	15
2.2 L'enquête	15
2.3 Technique de prélèvement	16
2.4 Isolement des souches d' <i>Escherichia coli</i>	16
2.5 Conservation des souches	17
2.6 Tests d'identification d' <i>Escherichia coli</i>	17
2.7 Test d'hémolyse.....	19
2.8 Test d'antibiogramme.....	20

Chapitre II : résultats et discussion

1. Résultats d'enquête	22
2. Résultats d'isolement	25
3. Résultats d'identification.....	30
4. Résultat d'hémolyse.....	32
5. Résultat d'antibiogramme.....	33

Conclusion.....	40
-----------------	----

Références bibliographiques

Introduction

En Algérie, la production avicole a connu un réel développement ces 20 dernières années grâce aux importants investissements consentis par les secteurs privés et publics. Cependant, l'intensification de la filière aviaire, n'évolue pas sans problèmes. En effet, la plupart des aviculteurs ne sont pas des professionnels et ne maîtrisent pas l'application des règles d'hygiène fondamentales, favorisant ainsi l'émergence de pathologies diverses qui portent atteinte à la qualité du produit et la rentabilité économique des élevages (**Hammoudi et al., 2009**)

Les *Escherichia coli* sont des hôtes commensaux du tractus digestif de la volaille et la plupart des souches ne sont pas pathogènes. Cependant, un certain nombre de celles-ci appelées « Avian Pathogenic *E. coli* » ou APEC et appartenant à des sérotypes bien particuliers sont associées au syndrome de la colibacillose, dont les lésions et les manifestations peuvent être variables suivant l'âge de l'animal. Les intestins sont, en effet, le réservoir le plus important des *E. coli* pathogènes aviaires ou APEC (**Stordeur et Mainil, 2002**)

Les colibacilloses sont sans doute les infections bactériennes les plus fréquentes et les plus importantes en pathologie aviaire. Elles peuvent entraîner de la mortalité, des baisses de performances et des saisies à l'abattoir. Contrairement aux infections des mammifères, les colibacilloses aviaires prennent des formes générales, avec une voie d'entrée respiratoire ou génitale. La plupart des colibacilloses sont des surinfections, à la suite d'infections virales ou bactériennes (mycoplasmes respiratoires notamment) (**Guerin, 2008**). Elles se traduisent cliniquement par des lésions fibrineuses des séreuses (péricardite, péri hépatite et conduit par la suite à une septicémie entraînant la mort de l'animal. Son importance hygiénique est pratiquement nulle, bien que quelques souches pathogènes pour les volailles se rencontrent également dans les néphrites et les cystites de l'homme (**Charaf, 2009**).

Le contrôle des colibacilloses aviaires est principalement assuré par des traitements aux antibiotiques, utilisés soit en prévention lors des atteintes virales ou en traitement curatif. En général, un traitement antibiotique adéquat doit être instauré après avoir suivi une bonne démarche clinique et para-clinique; à savoir, l'isolement de la bactérie en cause et la réalisation des tests de sensibilité aux antibactériens. (**Amara et al., 1994**)

L'objectif de cette étude est l'étude de la sensibilité aux antibiotiques chez les souches d'*E.coli* isolées de cas de diarrhées colibacillaires dans quelques élevages de poulet de chair dans la région de Bouira.

Partie théorique

Chapitre I :
Infections à *Escherichia coli*

1. Généralités d'*Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie à Gram négatif, non sporulée, mobile, de la famille des *Enterobacteriaceae*, du genre *Escherichia*. Cette bactérie est caractérisée par les antigènes O (somatique), H (flagellaire), F (pilus) et K (capsulaire) qui permettent d'identifier plusieurs sérotypes (Al Hassan, 2012)

1.1 Classification

Règne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : *Gammaproteobacteria*

Order : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Escherichia*

Espèce : *Escherichia coli* (De Vos P., 2009)

1.2. Morphologie

E.coli est un bacille, de forme cylindrique (bâtonnet) ou coccobacillaire, à Gram négatif uniformément coloré, non sporulé, de 2µm à 3µm de long sur 0.7µm de large. Il se présente soit seul ou groupé le plus souvent par deux (diplobacilles), très rarement ils sont rencontrés en amas. Ils sont mobiles grâce à une ciliature péritriche.(Garba, 2012)

1.3. Propriétés culturelles

Elle pousse sur milieu ordinaire à une température optimale de 37°C. Incubées 24 heures sur gélose à 37°C, les colonies sont convexes, lisses et incolores. Elles ont en général un diamètre compris entre 1 et 3 mm avec une structure granulaire et une marge intacte. La surface est brillante et la consistance est gluante. Elle a la propriété de fermenter le lactose à 44°C (Garba, 2012)

1.4.Caractères biochimiques

Cette bactérie est : rouge de méthyle (+), désaminase (-), VP (-), lactose (+), ONPG (+), mannitol (+), Indole (+++), uréase (-), acétoïne (-), citrate (-), H₂S (-), gaz (+), saccharose (+), salicine (+) et LDC (+) (Garba, 2012)

D'autres réactions biochimiques les mettent en évidence, mais les seuls critères biochimiques ne permettent pas de différencier correctement les colibacilles pathogènes des saprophytes.

Néanmoins, le recours à ces critères permet de vérifier la présence ou l'absence de colibacilles dans un échantillon. (AL Hassane, 2012).

1.5 Propriétés biologiques

1.5.1 Pouvoir pathogène

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. Ces facteurs regroupent les adhésines ou fimbriae (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 (Stordeur et Mainil, 2002).

1.5.2. Le pouvoir antigénique

Les colibacilles possèdent :

- Des antigènes somatiques (O) dont 157 sont connus actuellement ;
- Des antigènes capsulaires (K) dont 99 sont dénombrés ;
- Des antigènes flagellaires (H) avec 55 répertoriés ;

Plus de 1000 sérotypes existent, mais seul un petit nombre de ces sérotypes joue un rôle important en pathologie aviaire. Les groupes sérologiques O₁K₁, O₂K₁, O₇₈K₈₀ regroupent la majorité des souches pathogènes. (AL Hassane, 2012).

1.5.3 Le pouvoir immunogène

Escherichia coli possède un pouvoir immunogène faible. (AL Hassane, 2012).

1.6 Pathogénie

La voie d'entrée principale des *E. coli* pathogènes est le tractus respiratoire, via l'inhalation de particules de poussière contaminées par ces *E. coli* excrétés du tractus digestif d'animaux sains. En raison des caractères anatomophysiologiques des oiseaux, les *E. coli* pathogènes peuvent être déposés en grand nombre au contact direct des organes profonds. Ensuite, dès que la résistance d'un oiseau est affaiblie, les souches pathogènes ou non peuvent se développer. Après une première multiplication au niveau du tractus respiratoire supérieur, les bactéries colonisent les voies respiratoires profondes, à savoir les sacs aériens et les

poumons. Dans une troisième étape, elles atteignent le sang puis colonisent les organes internes comme le cœur, le foie et la rate (AL Hassane, 2012).

1.7 Epidémiologie

1.7.1 Les sources et matières virulentes

E. coli colonise le tractus digestif, notamment le colon des oiseaux à une concentration bactérienne d'environ 10^6 germes/g fientes. Sa présence dans la litière et l'eau de boisson indique une contamination d'origine fécale. Chez des poulets sains, 10 à 15 % des colibacilles intestinaux correspondent à des sérotypes potentiellement pathogènes (Charaf, 2009).

1.7.2 Facteurs de réceptivité et de sensibilité

L'apparition et l'intensité des colibacilloses dépendent de plusieurs facteurs dont l'âge, la race et les conditions d'élevage (AL Hassane, 2012).

2. Les infections à *E.coli*.

Les colibacilloses sont les infections bactériennes les plus fréquentes chez les volailles. Elles représentent vraisemblablement la première cause de traitement antibiotique dans les élevages et l'émergence de souches résistantes. Elles peuvent être schématiquement classées en colibacilloses primaires dues à des colibacilles spécifiquement pathogènes et des colibacilloses secondaires, à une infection virale ou à une immunodépression (Garba, 2012).

C'est une maladie très répandue dans le monde, notamment dans les zones d'élevage intensif. Dans les pays d'Afrique du nord, elle est connue comme étant l'entité infectieuse la plus courante surtout chez le poulet de chair (Bachir Patcha *et al.*, 2013)

2.1 Transmission

La contamination colibacillaire se fait essentiellement par voie aérienne. Le délitement des fientes sèches et de la litière provoque de véritables aérosols de bactéries qui seront inhalées par les oiseaux. Les sacs aériens contaminés peuvent propager l'infection aux organes génitaux (ovaires, utérus) par simple contact. Certaines souches intestinales banales provoquent des infections après entérite (Guérin, 2011).

La transmission verticale est aussi possible, dans ce cas, l'ovaire ou l'oviducte infectés contaminent les œufs qui à leur tour contaminent tout l'environnement lors du processus d'éclosion (Bachir Patcha *et al.*, 2013).

2.2 Facteurs favorisant la propagation de la maladie

La maladie est favorisée par une humidité élevée, une concentration d'ammoniac, une forte densité et par le stress et la vaccination. Ces facteurs influent sur l'épithélium des voies respirations supérieures, dans certains cas provoquent une immunosuppression. L'apparition de la maladie est compliquée par un nombre important d'infections telles que la Newcastle et la mycoplasmosse (**Bachir Patcha et al., 2013**).

2.3 Symptômes généraux

Le premier signe clinique rencontré est une chute importante de la consommation alimentaire. Ensuite, l'abattement accompagné et l'hyperthermie (42 à 44°C) apparaissent. Les animaux, les plus atteints, présentent alors des signes de détresse respiratoire (bec ouvert, respiration accélérée et irrégulière) et une diarrhée blanchâtre. Les manifestations cliniques diffèrent suivant l'âge de l'animal (**Al Hassan, 2012**).

2.4 Manifestations cliniques

Les signes cliniques (y compris les taux de morbidité et de mortalité) varient considérablement en fonction de la maladie ou des lésions produites par *E. coli*. Il n'y a pas d'âge de prédisposition, bien que les jeunes oiseaux soient fréquemment touchés par une maladie cliniquement plus sévère. Les signes cliniques peuvent être absents lorsque la lésion est bénigne ou localisée mais aussi quand les oiseaux meurent d'une forme suraiguë (**Nolan et al., 1992**)

2.4.1 Mortalités du jeune poussin

Cette expression de la colibacillose constitue probablement avec les erreurs d'élevage, la cause la plus importante de mortalité chez les poussins âgés de moins d'une semaine. La contamination de l'œuf et plus précisément de la membrane vitelline, se fait essentiellement lors de la ponte, au passage de celui-ci par le cloaque. Les bactéries alors présentes dans les matières fécales de la poule viennent se déposer à la surface de l'œuf. Ensuite, celles-ci pénètrent à travers les membranes coquillières et vont contaminer la membrane vitelline. La possibilité de contamination des œufs à partir de lésions de salpingite ou d'ovarite existe mais reste peu fréquente. De 0,5 à 6% des œufs sont contaminés par *E. coli*. Dans cette pathologie, on peut considérer que celle-ci est l'agent primaire de l'infection (**Stordeur et Mainil, 2002**).

2.4.2 La maladie respiratoire chronique

La maladie résultante est communément appelée maladie des sacs aériens ou maladie respiratoire chronique. La maladie des sacs aériens apparaît principalement chez les poulets âgés de 5 à 12 semaines avec un pic entre 6-9 semaines (**Charaf, 2009**).

La contamination se fait par voie respiratoire et est secondaire à une infection à mycoplasmes (*Mycoplasma gallisepticum*), à une virose à tropisme respiratoire (bronchite infectieuse) ou immunosuppressive (maladie de Gumboro), à un accident de vaccination ou à une concentration trop élevée en agents irritants dans l'air (poussière ou ammoniac), qui altèrent la muqueuse respiratoire, permettant l'entrée d'*E.coli* dans le flux sanguin. Il s'ensuit une aérosacculite de gravité variable et la lésion est généralement de longue durée (**Nolan et al.,1992; Stordeur et Mainil, 2002**).

Les oiseaux malades sont prostrés, anorexiques et présentent des symptômes respiratoires non spécifiques (éternuements, râles, toux, jetage, larmolements, sinusite). La morbidité dépasse souvent 20% et la mortalité reste inférieure à 5% sauf complications (**Charaf, 2009**).

2.4.3 La colisepticémie

C'est la septicémie provoquée par l'invasion colibacillaire des jeunes oiseaux. Elle se traduit par des mortalités brutales après une période d'abattement et de perte d'appétit des poulets. Il existe souvent des complications de colibacilloses respiratoires, d'omphalites ou de synovites.

Les lésions de la forme aiguë sont non exsudatives :

- Foie : hypertrophie, coloration intense avec quelques zones de dégénérescence, parfois verdâtres ;
- Rate : hypertrophiée avec des points de nécrose ;
- Rein : néphrite, dépôts d'urates ;
- Intestin : ampoule cloacale distendue par des gaz et des matières liquides blanchâtres ;
- Légère ascite : aspect brillant des viscères par le liquide abdominal inflammatoire (**Guérin, 2011**)

2.4.4 Ovarites et salpingites

Les formes génitales se rencontrent sur les futures reproductrices avant l'entrée en ponte ou sur les adultes, avec ou sans symptômes respiratoires. Il existe un tropisme particulier de certains colibacilles pour l'appareil génital femelle des oiseaux (**Nolan et al., 1992**)

Cette maladie, plus souvent chronique, apparaît lorsque le sac aérien abdominal gauche est atteint par les *E. coli*. Les bactéries se propagent alors, par contiguïté de tissu, pour atteindre l'oviducte et y persister quelques temps. Les animaux malades mourant dans les 6 mois suivant l'infection. D'un point de vue histologique, les lésions consistent en une diminution de l'épaisseur des parois de l'oviducte, la présence d'hétérophiles, de fibrine et de débris nécrotiques caséifiés.

Cet aspect de la colibacillose, rencontré de plus en plus fréquemment, n'est pas à négliger. Toutefois, il semblerait que la transmission de la bactérie au poussin, via les ovaires ou les oviductes infectés, ne constitue pas une voie majeure de l'infection de la vésicule vitelline à la naissance (**Stordeur et Mainil, 2002**).

2.4.5 Omphalite colibacillaire/infection du sac vitellin

L'inflammation de l'ombilic (omphalite) des poussins venant d'éclore conduit souvent à une infection concomitante du sac vitellin adjacent (infection du sac vitellin). Le manque d'hygiène dans l'éclosoir et la contamination de la coquille sont d'importantes sources d'infection. De faibles nombres d'*E. coli* peuvent être souvent isolés à partir de sacs vitellins normaux. De temps en temps, une plus grande contamination se produit *in ovo* quand les poules sont atteintes d'une oophorite ou d'une salpingite. La translocation des bactéries de l'intestin de l'oiseau ou de la circulation sanguine peut également conduire à l'infection du sac vitellin. (**Nolan et al., 1992**)

Si la souche d'*E. coli* n'est pas très virulente, les embryons et les jeunes poussins peuvent vivre, mais certains présenteront une rétention du sac vitellin. Cependant, l'infection du sac vitellin peut entraîner la mort de l'embryon et, avec certaines souches très virulentes, comme le sérotype O1a:K1:H7, tous les embryons exposés comme les poussins nouvellement éclos ne survivent pas. Les oiseaux nouvellement éclos infectés survivants seront une source de colibacilles pour les autres poussins du couvoir. Si l'environnement de l'éclosoir est trop sec, on peut observer une incidence élevée d'omphalites et d'infections du sac vitellin, surtout au cours de la première semaine de vie (**Nolan et al., 1992**)

2.4.6 Formes rares

Parmi les formes rares, on peut noter l'infection synoviale, la panophtalmie, l'entérite, la dermatite à *E. coli* mais aussi la maladie de Hjarre (ou coligranulomatose) qui est une forme particulière se manifestant par des nodules blanchâtres dans plusieurs organes (le long des intestins, dans le mésentère, dans le foie), sauf dans la rate (**Garba,2012**)

2.5 Traitement

A l'heure actuelle, celui-ci repose encore essentiellement sur l'antibiothérapie. Au niveau mondial, les familles d'antibiotiques utilisées en élevage sont souvent les plus anciennes, ce sont principalement les tétracyclines, les fluoroquinolones, les céphalosporines et les macrolides. Toutefois, il faut rester prudent quant à l'utilisation des antibiotiques car de récentes études menées sur une collection de 1600 souches EPEC ont montré que le nombre de souches résistantes à ces divers antibiotiques allait en s'accroissant; il est donc plus que jamais nécessaire de réaliser un antibiogramme avant ou en parallèle au traitement.

2.6 Prévention

La prévention vise à lutter contre toutes les sources de contamination, les vecteurs animés ou inanimés et les facteurs favorisant. Les infections du tractus respiratoire des animaux peuvent être réduites en garantissant des animaux indemnes de mycoplasmes et en contrôlant mieux certains facteurs environnementaux comme l'humidité, la ventilation, la teneur en poussière et en ammoniac dans l'air. Les rongeurs, les insectes parasites, coprophages, nécrophages sont aussi des réservoirs potentiels de colibacilles et doivent être systématiquement détruits. (**Charaf, 2009**)

La qualité de l'eau de boisson est très importante, il faut dès lors veiller à la changer très régulièrement. Des mesures générales de séparation des animaux par classes d'âge et par espèce, de nettoyage, de désinfection et de vide sanitaire entre chaque lot sont aussi des mesures de prévention indispensables dans le cadre de la lutte contre la colibacillose. Enfin, les systèmes de vaccination employant la technique du spray/ nébulisation chez les poussins d'un jour ne sont peut être pas les méthodes les plus appropriées pour empêcher la propagation des colibacilles par voie aérienne (**Charaf, 2009**)

Etant donné l'énorme diversité des souches d'*E.coli* aviaires en matière de facteurs de virulence, A l'heure actuelle, aucun vaccin n'est disponible pour lutter efficacement contre les colibacilloses aviaires (**Al Hassan, 2012**)

Chapitre II :

Résistance aux antibiotiques

L'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire a considérablement amélioré l'état sanitaire des animaux, mais la facilité de cette utilisation a déterminé la sélection de bactéries résistantes et l'augmentation de leurs multirésistances car l'usage abusif et excessif des antibiotiques accélère le phénomène de résistance (Al hassane, 2012).

Le contrôle des antibiotiques ne se limite pas à la médecine humaine mais aussi au secteur animal et en particulier à l'élevage. D'après l'OMS, la moitié des antibiotiques sont, dans le monde, destinés aux animaux. Dans de nombreux pays, des antibiotiques en dose faible sont toujours donnés aux animaux d'élevage pour accélérer leur croissance et leur prise de poids. Cette pratique contribue au développement de résistances qui peuvent ensuite être transmises à l'homme. (Al hassane., 2012).

1. Quelques définitions

1.1 Antibiotique : On appelle antibiotique toute substance chimique, quelle que soit l'origine, agissant de manière spécifique sur une étape ou du métabolisme des bactéries (antibiotique antibactériens) ou des champignons (antibiotique antifongique); ces substances sont d'origine naturelle, semi-synthétiques ou synthétique. (Delarras., 2008).

1.2 L'antibiothérapie : C'est le traitement utilisant des antibiotiques pour soigner des patients atteints d'une maladie infectieuse bactérienne. (Delarras., 2008).

1.3 Concentration minimale bactéricides (CMB) : c'est la plus faible concentration d'antibiotique ne laissant survivre qu'un nombre inférieure ou égale à 10^4 bactéries de l'inoculum, après incubation pendant 18 heures à 37°C (Delarras., 2008).

1.4 Concentration minimale inhibitrice (CMI) : c'est la plus faible concentration d'un antibiotique donné pouvant arrêter, dans un milieu et à des concentrations déterminées, toute croissance visible d'une souche bactérienne donnée. (Delarras., 2008).

1.5 Spectre d'activité d'un antibiotique : C'est la liste des espèces bactériennes pouvant être inhibées (effet bactériostatique) ou détruites (effet bactéricide) par les concentrations d'un antibiotique donné, atteintes *in vivo* (Delarras., 2008).

2. La résistance aux antibiotiques

Les antibiotiques c'est une des découvertes les plus importantes de la médecine qui a sauvé et qui sauve des millions de vies chaque année, mais leur efficacité est menacée car les bactéries peuvent s'adapter et résister au traitement. La résistance peut être naturelle ou acquise.

- **La résistance naturelle** : ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal.
- **La résistance acquise** : il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce (**Lozniewski et al., 2010**)

3. La résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli*

Le genre *Escherichia* est sensible aux antibiotiques tels que les aminocyclitols, polymyxine, tétracyclines, sulfamides, diaminopyrimidines, et les quinolones mais il peut développer une résistance à ces antibiotiques s'il y a une utilisation abusive et anarchique de ces derniers pour soigner ou prévenir les maladies. Ceci entraîne fréquemment des échecs thérapeutiques (**Ndiaye, 2010**).

En plus, *E. coli*, responsable chez le poulet de chair de la colibacillose aviaire, est de plus en plus résistante à plusieurs antibiotiques. Cette résistance est en grande partie véhiculée par des plasmides pouvant passer par conjugaison entre individus de souches, d'espèces et de genres différents chez les bactéries à Gram négatif, et les plasmides qui codent pour la résistance pourraient alors être échangés. Chez le poulet la pression de sélection est très importante et elle est responsable de la forte antibiorésistance rapportée par plusieurs auteurs (**Amara, 1994**).

4. Les antibiotiques et l'antibiorésistance dans l'élevage avicole

Depuis ces 20 dernières années, peu de nouveaux antibiotiques sont venus enrichir l'arsenal thérapeutique vétérinaire, comme d'ailleurs celui de la médecine humaine.

Trois familles d'antibiotiques dites critiques pour l'homme doivent être préservées : les céphalosporines, les fluoroquinolones et les macrolides. La pression exercée par un antibiotique sur le milieu intestinal peut sélectionner parmi la flore normale de l'intestin des volailles des bactéries portant des gènes de résistance aux antibiotiques, qui risquent ensuite de diffuser à travers la chaîne alimentaire jusqu'au consommateur.

Malgré l'amélioration des moyens de prévention, les maladies bactériennes resteront toujours un risque en élevage avicole, qu'on devra être capable de traiter afin d'assurer la rentabilité de la production et le bien-être animal (**Anses, 2010**).

4.1 Usages des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être utilisés de quatre façons différentes, avec des objectifs variables

- Les antibiotiques sont tout d'abord utilisés à titre thérapeutique curatif. L'objectif majeur est d'obtenir la guérison des animaux cliniquement malades et d'éviter la mortalité. Le traitement a aussi pour effet de réduire la souffrance et de restaurer la production (lait, viande).
- Lorsqu'une infection collective et très contagieuse se déclare dans un élevage avec de grands effectifs et évolue sur un mode aigu, avec suffisamment d'éléments concordants pour incriminer une (des) bactérie(s),
- Les antibiotiques peuvent, parfois, être administrés à des périodes critiques de leur vie, sur des animaux soumis à une pression de contamination régulière et bien connue, après contrôle de la nature de l'infection par des examens de laboratoire. Dans ces conditions, on parle d'antibio-prévention car le traitement permet d'éviter totalement l'expression clinique.
- L'usage des antibiotiques dans l'aliment à titre d'additifs en vue d'améliorer la croissance a fait l'objet de nombreuses critiques. Il est très limité actuellement et il a été abandonné fin 2005 en Europe. (**SFM,2017**)

4.2 Quelques familles d'antibiotiques soumis à prescription vétérinaire et utilisés en aviculture

- **Macrolides et apparentés** : Spiramycine, Tylosine, Tiamuline, Tilmicosine, Érythromycine, Lincomycine.
- **Aminocyclitols** : spectinomycine.
- **Polypeptides** : colistine.
- **Bêtalactamines** : Ampicilline, Amoxicilline.
- **Tétracyclines** : oxytétracycline.
- **Cyclines de 2e génération** : doxycycline.
- **Quinolones** : Acide oxolinique, Fluméquine, Enrofloxacin. (**Guerin, 2011**).

4.3 Choix d'antibiotique

Concernant les propriétés générales de diffusion des antibiotiques, on peut citer les grandes règles suivantes :

- Dans le cas d'infections septicémiques, on privilégiera des antibiotiques bactéricides qui diffusent bien dans les compartiments extracellulaires et qui sont peu liés aux protéines plasmatiques, comme les bêtalactamines ;
- Dans le cas des infections respiratoires profondes, on choisira des antibiotiques qui diffusent bien dans les tissus pulmonaires et notamment à travers des tissus lésés par de la fibrine, comme les macrolides ou les fluoroquinolones ;
- Dans le cas des infections digestives, on choisira des antibiotiques qui ne diffusent pas à travers la paroi intestinale (colistine) ou peu (tétracyclines, ampicilline)

Le recours à l'antibiogramme qui accompagne la prescription du vétérinaire est très fréquent en aviculture et participe à la maîtrise des risques d'antibiorésistance, grâce à une antibiothérapie raisonnée, et produit des données qui permettent de surveiller le risque d'augmentation d'antibiorésistances. (**Guerin, 2011**).

5. L'antibiogramme

L'antibiogramme est une méthode de travail microbiologique, utilisant un milieu gélosé spécifique en boîte de Pétri et des disques imprégnés d'antibiotiques à des concentrations déterminées.

Un antibiogramme permet de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne. Il donnera donc des indications sur l'efficacité *in vitro* de ces antibiotiques (**Delarras, 2008**).

La sensibilité des isolats aux différents agents antibactériens testés est déterminée par la technique de diffusion en gélose de Mueller-Hinton (**Hammoudi et al., 2009**).

6. Mécanisme de résistance

6.1. Modification de la cible

La modification des récepteurs a lieu, quand la cible intracellulaire ou le récepteur de l'antibiotique est altéré par la bactérie. Ce mécanisme inclut la modification de la conformation structurale des protéines liant les pénicillines (PLP), l'altération des ribosomes, qui peut rendre les aminoglycosides, les macrolides ou les tétracyclines inactives et la

modification de l'ADN gyrase, conduisant à la résistance pour aux fluoroquinones (**Alanis, 2005 ; Daurel et Leclercq, 2008**).

6.2. Antibiotiques à flux actif

Il est approprié pour les antibiotiques qui agissent à l'intérieur de la cellule bactérienne, et aura lieu lorsque le micro-organisme développera un mécanisme de transport actif, qui pompe les molécules des antibiotiques à l'extérieur de la cellule (**Alanis, 2005**). Ces pompes sont des protéines membranaires, regroupées en super-familles qui tirent leur énergie, soit de la force proton-motrice, soit de l'hydrolyse de l'ATP (**Courvalin, 2007**).

6.3. Modification ou destruction de l'enzyme

Cette modification se produit lorsque la bactérie produit un ou plusieurs enzymes qui dégradent ou modifient l'antibiotique, en les rendant inactifs, tels que les betalactamases qui hydrolysent le noyau bêta-lactame. Ces enzymes se retrouvent à la fois chez les bactéries Gram négatif et Gram positif (**Delmee, 2004**).

6.4. Imperméabilité membranaire

Ce type de la résistance est lié aux porines (canaux aqueux ou hydrophiles) qui sont constitués de trois molécules de protéines qui laissent diffuser diverses molécules de faible masse moléculaire, comme des substrats ou encore des antibiotiques. Le dysfonctionnement de l'une d'entre elles peut entraîner une imperméabilité membranaire (**Lavigne, 2007**).

Partie pratique

Chapitre I :

Matériel et méthodes

1. Matériel

Le matériel utilisé est présenté dans de tableau ci-dessous

Tableau 01 : Matériel utilisé

2. Méthodes

Matériel utilisé	Réactifs utilisés	Milieux utilisés
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Autoclave ▪ Bain-marie ▪ Balance ▪ Barreau magnétique ▪ Bec bunsen ▪ Boîtes de Pétri ▪ Briquet ▪ Ecouvillons ▪ Erlen Mayer ▪ Etuves ▪ Eprouvette ▪ Flacons ▪ Lames ▪ Micropipette ▪ Microscope optique ▪ pH mètre ▪ Pincés ▪ Pipetes Pasteur ▪ Plaque chauffante ▪ Agitatrice ▪ Spatule ▪ Tubes à essais ▪ Tubes Eppendorf 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Disques d'antibiotiques Acide nalidixique Cephalothine Clindamycine Ofloxacine ▪ Ethanol ▪ Fuchsine ▪ Huile d'immersion ▪ Lugol ▪ Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ▪ Violet de gentiane ▪ HCl ▪ NaOH 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Gélose EMB ▪ Gélose Mannitol-Mobilité ▪ Gélose Mueller Hinton ▪ Gélose nutritive ▪ Gélose TSA additionnée de sang ▪ Gélose TSI ▪ Bouillon nutritif ▪ Gélose Citrates de Simmons

2.1 Sites de prélèvement

L'échantillonnage a été réalisé à partir des poulaillers privés qui font l'élevage de poulet de chair localisés dans des régions de quelques subdivisions agricole de la wilaya de Bouira, qui est située au centre nord du pays à environ 114 km au sud-est de la capitale d'Algérie et au sud-ouest de la chaîne du Djurdjura dans l'Atlas tellien, à une altitude de 525m, et s'étend sur une superficie de 4454 Km², représentant 0.19% du territoire national, elle se trouve dans la vallée du fleuve Sahel qui est dominée au nord par le piton montagneux Haizer, avec des coordonnées géographiques suivant : 36°22'N et 3°53'E. Elle est limitée géographiquement :

- Au Nord par Boumerdés et Tizi Ouzou.
- Au Sud et Sud-Ouest par M'Sila et Médéa.
- A l'Est et sud-est par Béjaia et Bordj Bou Arréridj.
- A l'Ouest par Médéa.

Tableau 02 : Les sites de prélèvement

Poulaillers	Les sites de prélèvement	Nombre de poulet/bâtiment
1er prélèvement : Poulailler 01	Ain-Laloui	3600
2ème prélèvement : Poulailler 02	Ain-lahdjar	1000
3ème prélèvement : Poulailler 03	Haizer	3000
4ème prélèvement : Poulailler 04	Ain-Bessam	2000
5ème prélèvement : Poulailler 05	El-Hachimia	3500

2.2 L'enquête

Un questionnaire, portant des questions sur plusieurs éléments d'élevage, a été réalisé. Ce questionnaire nous permettra de recueillir des informations sur les établissements concernés, pour connaître leurs infrastructures, leurs équipements, leur fonctionnement, personnel, le niveau d'hygiène, les moyens de nettoyage et de désinfection, l'environnement, les possibilités d'accès à d'autres animaux, l'origine de l'eau, l'origine des poussins et d'autres questions bien précises aux quelles le responsable de l'établissement devait répondre avec exactitude par des réponses claires tels que oui ou non, des chiffres ou autres réponses qui ne prêtent pas à confusion. Puis, les prélèvements sont toujours accompagnés par des fiches de suivi précisant les informations nécessaires à l'identification des conditions de prélèvement.

2.3 Technique de prélèvement

Au poulailler, avec une pince prélever une petite quantité de fiente et la mettre dans un tube à essais contenant 5 ml de bouillon nutritif (la fiente présentant une consistance normale est d'origine d'un sujet sain). Pour les sujets malades, présentant des diarrhées mouillées, le prélèvement est réalisé en utilisant les écouvillons et les mettre dans des tubes à essais. A la fin, incuber les tubes à essais pendant 24h à 37°C. En total, 50 prélèvements ont été réalisé avec 5 sujets sains et 5 malades à partir de 5 poulaillers différents.

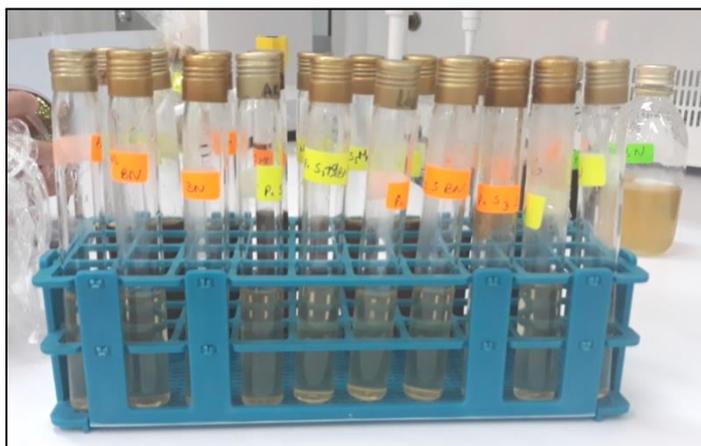


Figure 04: Les prélèvements réalisés.

2.4 Isolement des souches d'*Escherichia coli*

Remplir 10 boîtes de Pétri avec la gélose EMB « Eosine Methylene-blue » (milieu de culture sélectif pour les entérobactéries) et à l'aide d'une pipete Pasteur, ensemencer à partir de cultures bactériennes de 24heures contenues dans les tubes à essais les boîtes à gélose EMB puis incuber à 37°C pendant 24h.



Figure 05 : Boîtes de Pétri remplit de gélose EMB

2.5 Conservation des souches

Les souches qui sont considérées comme *E. coli* sont conservées dans le but de les garder pour d'éventuels tests

Remplir les tubes Eppendorf avec 1 ml du bouillon nutritif (3exemplaires pour chaque souche), puis repiquer une seule colonie dans chaque tube Eppendorf et mettre 2 exemplaires dans le réfrigérateur à 04°C. Pour le 3^{ème} exemplaire, ajouter 20µl de glycérol et les mettre dans le congélateur à -18°C.

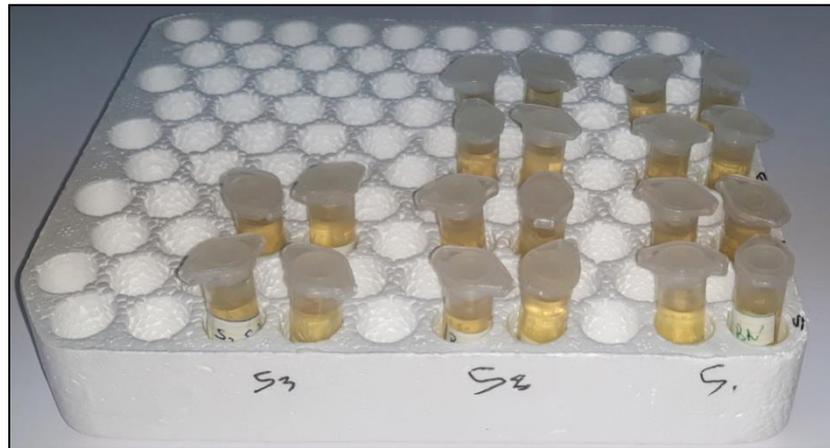


Figure 06 : tubes d'Eppendorf contenant de bouillon nutritif

2.6 Tests d'identification d'*Escherichia coli*

➤ Coloration de Gram

Préparer un frottis de la culture bactérienne sur les boîtes à gélose EMB puis recouvrir le frottis de violet de Gentiane et laisser agir 1 min ; rincer à l'eau distillée puis verser du Lugol et laisser agir pendant 1 min ; rincer à l'eau distillée ; décolorer avec l'éthanol entre 15 et 30 secondes puis rincer à l'eau distillée. En suite recolorer avec de la fuchsine de Ziehl pendant 10 à 30 secondes puis rincer à l'eau distillée. A la fin, sécher au-dessus de la flamme de bec bunsen et observer au microscope à l'objectif X 100 à immersion.

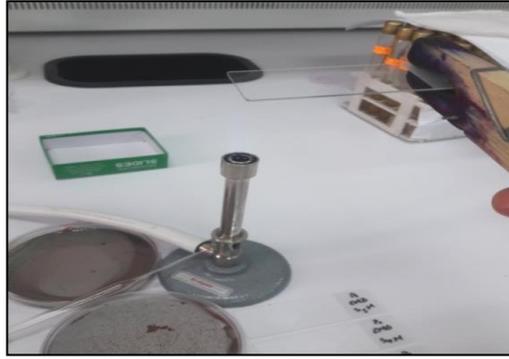


Figure 07 : Préparation du frottis.

➤ **Réaction de catalase**

Sur une lame propre déposer une goutte d'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) et à l'aide d'une pipette Pasteur, prélever une colonie d'*E. coli*, dissocier la colonie dans la goutte puis observer la formation de bulles.



Figure 08: test de catalase

➤ **Test de Citrate de Simmons**

Verser 5 ml de gélose de Citrate de Simmons dans des tubes à essais et laisser solidifier. Ensuite, prélever une colonie de la culture bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur fermée et faire une pique centrale dans le tube. Incuber pendant 24 heures à 37°C.

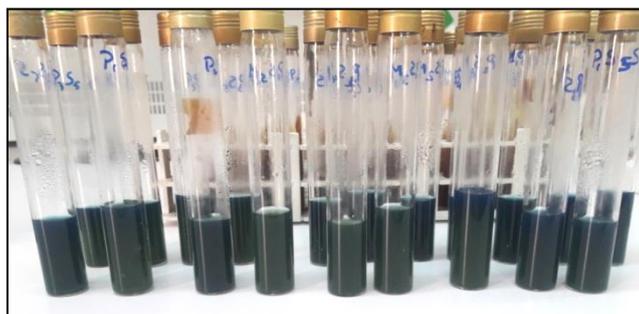


Figure 09 : tubes à Citrate de Simmons

➤ **Test de Mannitol- mobilité**

Verser 5 ml de gélose mannitol-mobilité dans 10 tubes à essais et laisser refroidir. Ensuite, à l'aide d'une pipette Pasteur fermée prélever une colonie de la culture bactérienne et faire une piqûre centrale, jusqu'au fond du tube de gélose, incuber 24 heures à 37°C.

➤ **Test TSI « triple sugar Iron »**

Verser dans les tubes 10ml de gélose TSI, laisser solidifier en position inclinée de façon à obtenir un culot de 2,5 cm de profondeur.

À l'aide d'une pipette Pasteur et à partir de culture bactérienne pure prélever une colonie et ensemercer la pente par des stries et le culot par piqure puis incuber à 37°C pendant 24 heures.

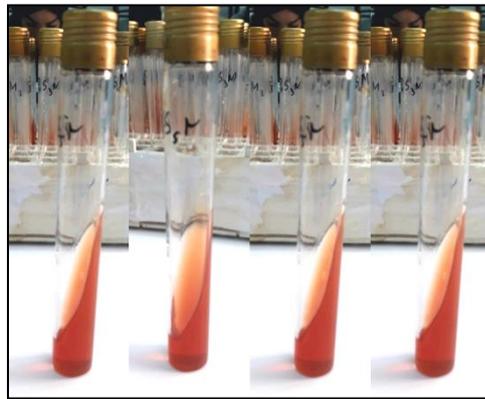


Figure 10 : tube à gélose TSI

2.7 Test d'hémolyse

Dans un flacon qui contient 100 ml de TSA, verser 5 ml de sang frais et mélanger bien les constituants puis couler les boîtes.

Verser 5ml de bouillon nutritif dans 10 tubes à essai et inoculer une colonie estimée d'être *E. coli* dans les tubes, Incuber à 37°C pendant 18h.

A l'aide d'une micropipette prenez 5µl à partir de la culture d'*E. coli* et verser le contenu sur la surface de boîte en forme de spots, laisser sécher puis incuber les boîtes à 37°C pendant 24h.



Figure.11 : boites de Pétri à gélose « TSA+ Sang frais »

2.8 Test d'antibiogramme

Remplir les boites de Pétri avec la gélose nutritive et repiquer une colonie présumée comme *E. coli* à partir des boites d'EMB et l'ensemencer sur la gélose nutritive pour avoir des colonies isolées. Puis incuber à 37°C pendant 24h

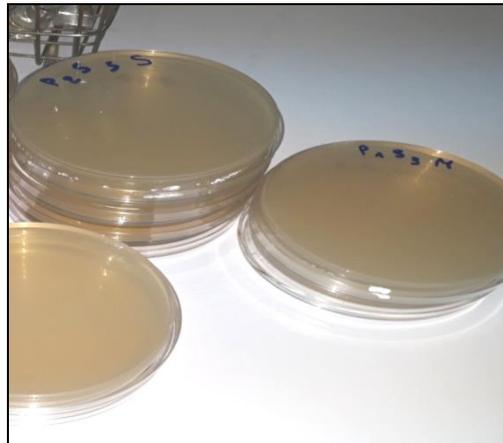


Figure 12 : Boites de Pétri à gélose nutritive

Dans des tubes à essais verser 5 ml d'eau physiologique puis ajouter une colonie d'*E. coli* et bien mélanger. (standard de Mc Farland 0,5)



Figure 13 : tubes remplis de l'eau physiologique.

Remplir les boîtes de Pétri avec la gélose Muller Hinton, A l'aide d'un écouvillon imbibé d'eau physiologiqueensemencer les boîtes par des stries serrées

Les antibiotiques utilisés sont donnés dans le tableau suivant

Tableau 03 : liste des antibiotiques utilisé dans l'antibiogramme

Famille	Antibiotique	Code	Dose mcg/Disc	marque
Fluoroquinolones	Ofloxacine	OF ⁵	5	TM
Fluoroquinolones	Acide nalidixine	NA ³⁰	30	TM
Lincosamides	Clindamycine	CD ²	2	TM
Céphalosporine	Cephalothine	CEP ³⁰	30	TM

Prélever les disques d'antibiotique (CEP₃₀; OF₅; NA₃₀; CD₂) stérilement avec une pince stérilisée et les déposer sur la gélose. Appuyer légèrement sans enfoncer les disques pour faciliter l'adhérence du disque. Puis incuber les boîtes à 37° C pendant 24h.

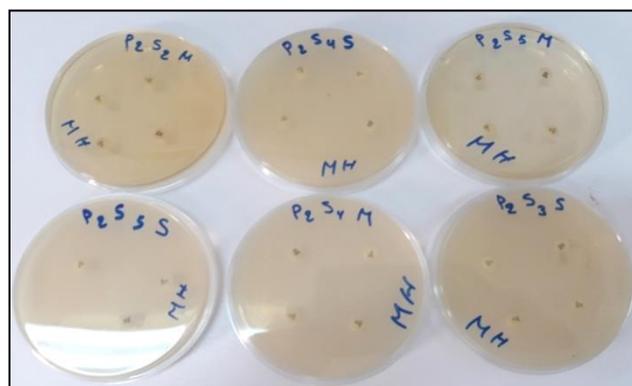


Figure 15 : Boîtes d'antibiogramme.

Chapitre II :

Résultats et discussion

1. Résultats d'enquête

D'après les résultats d'enquête qui a été réalisée à chaque prélèvement, et qui a pour objectif de mettre en évidence le niveau de la maîtrise des conditions d'élevage et son influence sur l'apparition et l'intensité des colibacilloses et l'antibiorésistance d'*E. coli*. Il s'est avéré que la totalité des poulaillers visités suivent la méthode d'élevage traditionnelle avec une structure variant d'un poulailler à un autre selon les capacités d'éleveur comme il est représenté dans le tableau et les figures ci-dessous.

Tableau 04 : Résultats d'analyse des fichiers d'enquête

Poulailler	Poulailler 1	Poulailler 2	Poulailler 3	Poulailler 4	Poulailler 5
<u>Elevage</u>	Traditionnel, au sol	Traditionnel, au sol.	Traditionnel, au sol.	Traditionnel, au sol.	Traditionnel, au sol.
<u>Bâtiment</u>					
type	Clair	Obscure	Clair	Clair	Obscure
Surface	400 m ²	100 m ²	200 m ²	80 m ²	350 m ²
stress	Non	Non	Non	Non	Non
Aération	Ventilation	Ventilation	Ventilation	Naturelle	Ventilation
Lumière	Artificielle	Artificielle	Artificielle	Artificielle	Artificielle
Chauffage	Gaz butane				
Sol	Gravillon	Gravillon	Béton	Béton	Béton
Mur	Parpaing	Chaulé	Parpaing	Béton	Béton
Toit	Métal	Canne	Charpente	Polistère	Charpente
Fenêtre	15 grillagées	4 grillagées	8 grillagées	6 grillagées	10 non-grillagées
<u>Poulet</u>					
Nombre	3600	1000	3000	2000	3500
Age	46 jours	33 jours	37jours	19 jours	45 jours
Densité	9 poulets/ m ²	10poulets/ m ²	15poulets/ m ²	25poulets/ m ²	10 poulets/ m ²
Souche	Arbor-Acres	Cobb	Cobb	Cobb	Cobb
Age d'abattage	46 à 48 jours	50 jours	50 jours	55 à 60 jours	50 jours
Poids	2.9 à 3.2 Kg	3kg	3kg	2.5 à 3.2 Kg	3 kg
Bandes /an	4	5	4	4	4

Alimentation					
Eau					
distribution	En continue	En continue	En continue,	En continue,	En continue,
analyse microbiologique	Non	Non	Non	Non	Non
Aliment	Finition	Croissance	Croissance	Démarrage	Finition
Distribution	3 fois/ jour	3 fois/ jour	2fois /jour	2 fois/jour;	2 fois/jour
analyse microbiologique	Non	Non	Non	non	Non
additifs :					
vitamines	A D3 E ; B ; E10%	A D3 E	A D3 E ; B	Turbovite	Turbovite
antibiotiques	Teramycine	Non	Teramycine	Clamoxile, Algicoxe. lincocyne	Clamoxile, Algicoxe.
Hygiène					
Mangeoire	1fois/3jours	1fois/3jours	1 fois/2 jours	1fois/semaine1	1fois/semaine
Abreuvoirs	1fois/3jours	chaque matin.	1 fois/2 jours	fois/semaine	1fois/semaine
Changement de litière	Fin de bande	Ajout chaque 10 jours.	Fin de bande	fin de bande	fin de bande
Vide Sanitaire	15 à 20 jours	20 jours	21 jours	30 jours.	30 jours.
Pédiluve	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
Soins vétérinaires	Contrôle non régulier.	Contrôle fréquent	Contrôle non régulier	Contrôle non régulier	Contrôle non régulier
Taux de mortalité	0.2%	environ 1%.	2 %	3%.	environ 3%.
Traitement					
Vaccination	Newcastle (7 ^{ème} et 21 ^{ème} j)				
	Branchite (7 ^{ème} et 21 ^{ème} j)				
	Gumboro	Gumboro	Gumboro	Gumboro	Gumboro

	j)	(14 ^{ème} j)	j)	j)	(14 ^{ème} j)
	Gumboro		Gumboro	Gumboro	
	(14 ^{ème} j)		(14 ^{ème} j)	(14 ^{ème} j)	
Antibiotiques	Tylosine	Fluoroquinolon	Tylosine	Clamoxile	Clamoxile
	Amoxicilline	Amoxicilline	Erythromycin	Lincomycine	Lincomycine
	Erythromycin				



Figure 12 : vue interne des poulaillers 3 et 4 successivement

➤ Bâtiments

Les bâtiments des poulaillers 1, 3 et 4 sont claires par contre les poulaillers 2 et 5 sont obscures avec une lumière artificielle, aération par ventilation et chauffage par gaz butane, tous les poulaillers sont loin des facteurs de stress.

➤ Contrôle de l'environnement

Concernent le contrôle de l'environnement par la mesure d'humidité, il est quasiment absent chez tous les éleveurs. Par contre la température est contrôlée par le thermomètre, elle varie selon la catégorie d'âge avec une moyenne de 32°C au démarrage et 25 °C à la phase de croissance jusqu'à l'abattage.

➤ Hygiène

La qualité d'hygiène reste toujours moyenne dans la quasi totalité d'exploitation, les mangeoires et les abreuvoirs sont nettoyés une à deux fois par semaine et ils n'utilisent pas de pédiluves mais la durée du vide sanitaire est respectée

➤ Qualité de la litière

D'après les réponses et les remarques qui ont été observées dans les poulaillers étudiés : la qualité de la litière reste critique, tout les éleveurs ne contrôlent pas la qualité et

ne change pas la litière qu'à la fin de bande ce qui rend le milieu favorable pour la multiplication de germes pathogènes, à l'exception de poulailler 2 qui rajoute des copeaux de bois chaque 10 jours pour diminuer l'humidité de la litière.

➤ **Qualité de l'eau**

Les eaux distribuées dans les abreuvoirs sont généralement des eaux de source ou de forage, avec aucune analyse microbiologique. Ce qui peut contaminer les poulets par des germes fécaux comme *E. coli*.

➤ **Qualité de l'alimentation**

L'alimentation est spécifique pour chaque phase de développement : démarrage, croissance et finition, où l'aliment est distribué dans des mangeoires mais renouveler régulièrement par tous les éleveurs. Cependant, des suppléments sont ajoutés tel que les vitamines et les facteurs de croissance.

➤ **Prophylaxie**

Concernant le programme de prophylaxie par vaccination, tous les éleveurs respectent ce programme : vaccin de Newcastle et Branchite au 7^{ème} jour et le rappel au 21^{ème} jour et Gumboro au 14^{ème} jour.

Les soins vétérinaires ne sont pas réguliers chez tous les poulaillers, ils sont à la demande, dans le cas des maladies. Le taux de mortalités varie entre 0,2 à 3%, qui sont des valeurs acceptables car les poulets sont très sensibles

Les antibiotiques utilisés en cas de maladies sont : Tylosine, Amoxicilline, Erythromycine, Clamoxile, Lincomycine et Fluoroquinolones mais la majorité des éleveurs utilisent ces antibiotique sans prescription de vétérinaires de manière anarchique et abusive ce qui augmente l'antibiorésistance chez les bactéries qui peut être transférée à l'homme.

➤ **La souche**

La souche la plus utilisée en élevage est la Cobb. Cependant le poulailler 1 utilise la souche Arbor acres qui sont des souches rentables (gain de poids rapidement par rapport à la quantité d'aliments consommée)

Ces résultats correspondent bien aux résultats relevés par Kaci *et coll.*, (2001), pour un travail réalisé sur 76 exploitations du centre du pays (**Kaci et coll., 2001**).

7. Résultats d'isolement

Après incubation à 37°C pendant 24h ; les gélosesensemencées sont observées pour détecter l'aspect des colonies sur ce milieu EMB.

On observe l'apparition des colonies violet foncé présentant un reflet métallique dans 40 échantillons sur les 50 échantillons réalisés en total.

7.1 Comparaison entre les sujets sains et malades de même poulailler

➤ Poulailler 01

Selon les résultats observés après l'incubation la majorité des sujets que se soit sains ou malades présente des souches d'*E.coli*, à l'exception des sujets 2 et 4 sains qui ne présentent pas le reflet métallique, donc l'absence de la souche *E.coli*.

Tableau05 : Résultats d'isolement de la souche *E.coli* des sujets sains et malades du premier poulailler.

Les sujets	Résultats
S ₁ S	Présence
S ₂ S	Absence
S ₃ S	Présence
S ₄ S	Absence
S ₅ S	Présence
S ₁ M	Présence
S ₂ M	Présence
S ₃ M	Présence
S ₄ M	Présence
S ₅ M	Présence

➤ Poulailler 02

Pour le 2^{ème} poulailler, les résultats d'isolement sur EMB indiquent un même pourcentage de présence des souches d'*E.coli* chez les sujets sains et malades ainsi que le même pourcentage d'absence chez les deux catégories. Ainsi, 3 sur 5 des sujets présentent des souches d'*E.coli* et 2 sur 5 une absence de cette espèce.

Tableau06 : Résultats d'isolement de la souche *E.coli* des sujets sains et malades du deuxième poulailler.

Les sujets	Résultats
S ₁ S	Absence
S ₂ S	Absence
S ₃ S	Présence

S ₄ S	Présence
S ₅ S	Présence
S ₁ M	Absence
S ₂ M	Présence
S ₃ M	Absence
S ₄ M	Présence
S ₅ M	Présence

➤ **Poulailler 03**

D'après les résultats de tableau ci-dessous, un sujet seulement ne présente pas des souches d'*E.coli* alors que le reste présente contrairement aux sujets malades où on trouve deux sujets qui ne présentent des souches d'*E.coli*.

Tableau07: Résultats d'isolement de la souche *E.coli* des sujets sains et malades du troisième poulailler.

Les sujets	Résultats
S ₁ S	Absence
S ₂ S	Présence
S ₃ S	Présence
S ₄ S	Présence
S ₅ S	Présence
S ₁ M	Absence
S ₂ M	Présence
S ₃ M	Absence
S ₄ M	Présence
S ₅ M	Présence

➤ **Poulailler 04**

Les résultats de poulailler 4 montrent qu'un seul sujet sain ne présente pas le reflet métallique, donc l'absence de la souche *E.coli*. Cependant, tous les échantillons obtenus des sujets malades présentent des souches d'*E.coli*

Tableau08 : Résultats d'isolement de la souche *E.coli* des sujets sains et malades du quatrième poulailler.

Les sujets	Résultats
S ₁ S	Présence
S ₂ S	Absence
S ₃ S	Présence
S ₄ S	Présence
S ₅ S	Présence
S ₁ M	Présence
S ₂ M	Présence
S ₃ M	Présence
S ₄ M	Présence
S ₅ M	Présence

➤ **Poulailler 05**

Tous les échantillons des sujets que se soit sains ou malades présentent des souches d'*E.coli* comme il est représenté dans le tableau suivant

Tableau09 : Résultats d'isolement de la souche *E.coli* des sujets sains et malades du cinquième poulailler.

Les sujets	Résultats
S ₁ S	Présence
S ₂ S	Présence
S ₃ S	Présence
S ₄ S	Présence
S ₅ S	Présence
S ₁ M	Présence
S ₂ M	Présence
S ₃ M	Présence
S ₄ M	Présence
S ₅ M	Présence

La présence de la souche d'*E.coli* chez les sujets sains n'indique pas que ces sujets développent une infection à *E.coli* mais ces sujets peuvent être considérés comme des porteurs sains. Par contre la présence de la souche d'*E.coli* chez les sujets malades peut être la cause de la colibacillose si elle atteint ou dépasse 10^6 germes/g.

Aussi l'absence de la souche d'*E.coli* chez certain sujet malades qui possède les symptômes de colibacillose peuvent être à l'origine des autres sources.

7.2 Comparaison des sujets malades entre les différents poulaillers

Selon les résultats mentionnés dans le tableau on a seulement 4 sujets parmi les sujets malades des 5 poulaillers qui ne présentent pas le reflet métallique qui indique la présence de la souche *E.coli*, On observe aussi une inégalité de nombre des sujets entre les poulaillers qui possèdent le reflet métallique.

Tableau10: Résultats d'isolement de la souche *E.coli* des sujets malades des poulaillers.

Les sujets	Poulailler 1	Poulailler 2	Poulailler 3	Poulailler 4	Poulailler 5
S ₁ M	Présence	Absence	Absence	Présence	Présence
S ₂ M	Présence	Présence	Présence	Présence	Présence
S ₃ M	Présence	Absence	Absence	Présence	Présence
S ₄ M	Présence	Présence	Présence	Présence	Présence
S ₅ M	Présence	Présence	Présence	Présence	Présence

Ces résultats indiquent que même si l'individu de poulet de chair possède les symptômes d'une colibacillose, il faut aussi penser à des autres origines de contamination qui peuvent conduire à cette maladie aviaire.

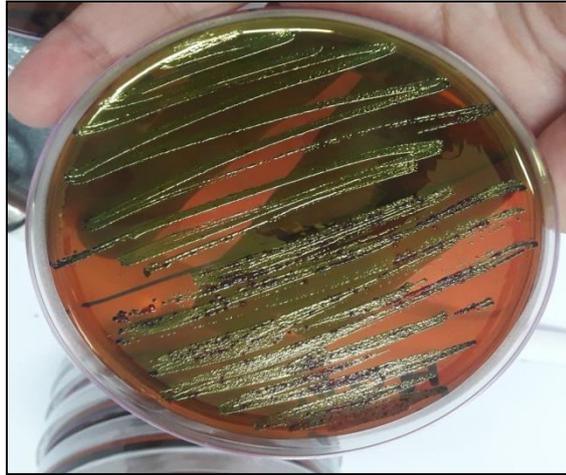


Figure13 : Aspect des colonies des souches d'*E.coli* sur milieu EMB

8. Résultats d'identification

Dans le but de confirmer l'appartenance des isolats à l'espèce *E.coli*, plusieurs tests phénotypiques ont été réalisés.

3-1 Coloration de Gram

Après observation au microscope optique à l'objectif X 100 à immersion, les bactéries sont colorés en rose de forme coccobacille, donc elles sont à Gram négatif

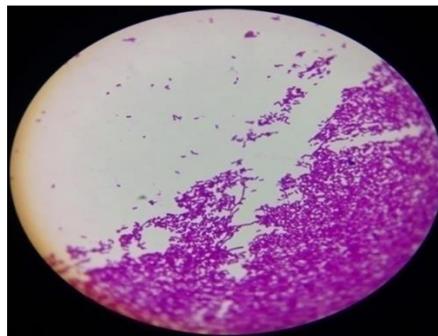


Figure14: Bactéries à Gram négatives de forme coccobacille observées au microscope optique (X 100)

3-2 Test de catalase

Formation des bulles d'air après 1 à 2 min, donc les bactéries possèdent la catalase.



Figure15 : Bactéries à catalase positive.

3.3 Test de Citrate de Simmons

Absence de culture bactérienne et aucun changement de couleur du milieu. Les bactéries n'utilisent pas le citrate comme seule source de carbone, Elles sont dites citrate négatives.



Figure 16 : Résultats du test de Citrate de Simmons

3.4 Test de Mannitol- mobilité

Virage de couleur du milieu vers le jaune et envahissement des bactéries dans tout le milieu. Donc les bactéries sont mobiles et fermentent le mannitol.



Figure17: Résultat du test mannitol-mobilité

3.5 Test TSI

Virage de couleur vers le jaune, au niveau culot et de la pente, et dégagement de gaz après la fermentation de glucides, donc les bactéries dégradent le Glucose, lactose et/ ou saccharose.

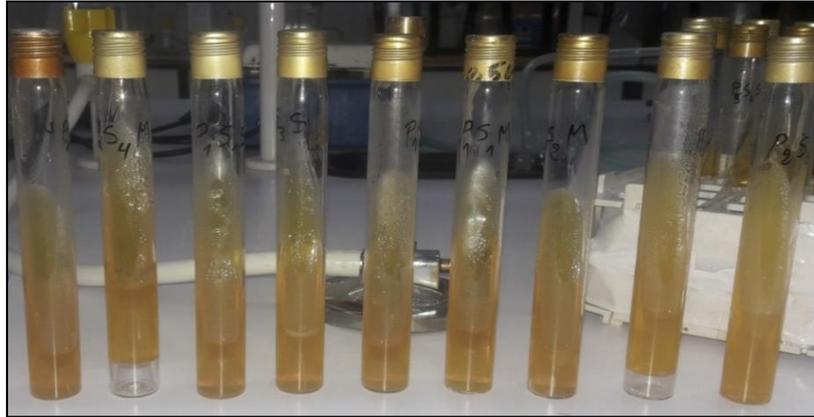


Figure 18: Résultats de test TSI.

Sur 40 échantillons, l'identification des bactéries isolées a été faite avec la galerie classique, tous les échantillons sont des coccobacilles à Gram négatif, catalase +, mannitol-mobilité +, CS – et TSI +. Qui sont des caractères d'*E.coli*. Donc la présence des souches d'*E.coli* est confirmée.

Sur un total de 50 prélèvements analysés, 80% se sont révélés positifs et représentent des souches d'*E. coli* et 20% sont des bactéries autres que *Escherichia coli*.

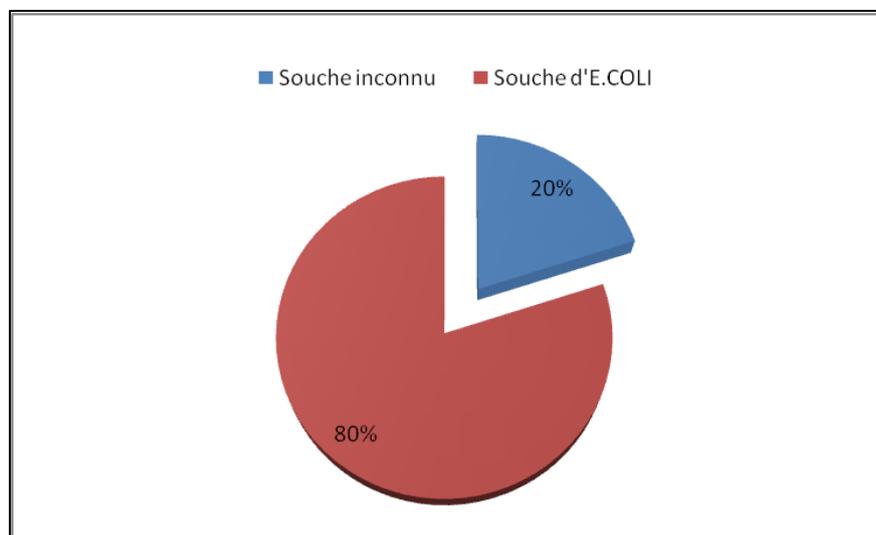


Figure19: Répartition des germes isolés et leurs fréquences relatives.

9. Résultat d'hémolyse

Après 18h d'incubation, on remarque l'absence d'halo d'éclaircissement autour de la colonie, donc les bactéries sont hémolyse γ : absence d'hémolyse

Plusieurs bactéries sécrètent des hémolysines, des substances susceptibles de causer une hémolyse, c'est-à-dire la lyse ou destruction des globules rouges. En infectiologie ces toxines sont des facteurs de virulence des bactéries, aggravant les symptômes du patient.

Sur une gélose de sang après incubation on observe :

- Hémolyse β ou complète : les colonies sont entourées d'une zone claire et incolore; les globules rouges sont lysés et l'hémoglobine dégradée en un composé incolore.
- Hémolyse α ou partielle : l'hémoglobine est réduite en méthémoglobine et il y a alors une zone verdâtre ou brunâtre autour des colonies.
- Hémolyse γ : absence d'hémolyse

L'absence de l'effet d'hémolyse chez toutes les souches isolées d'*E.coli* indique que ces souches n'ont aucun effet sur les globules rouges des poulets de chair et ne sont pas pathogènes et ne sont pas la cause de la colibacillose et les symptômes ont une autre source.

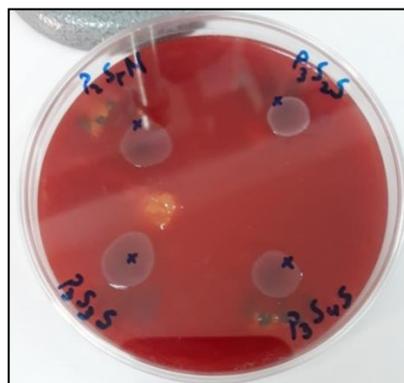


Figure20: Résultats de test d'hémolyse

10. Résultat d'antibiogramme

L'antibiogramme a été réalisé sur toutes les souches d'*Escherichia coli* isolées. Ainsi la sensibilité de 40 souches d'*E coli* a été étudiée vis-à-vis des quatre antibiotiques choisis.

Tableau11 : Résultats de résistance des souches d'*E.coli* testées

La souche	CD ₂	NA ₃₀	OF ₅	CEP ₃₀
	≥21 <17	≥20 <15	≥22 <19	≥18 <12
P ₁ S ₁ S	R	R	S	S
P ₁ S ₃ S	R	R	R	R
P ₁ S ₅ S	R	R	S	S

P ₁ S ₁ M	R	R	S	S
P ₁ S ₂ M	R	S	R	S
P ₁ S ₃ M	R	R	S	S
P ₁ S ₄ M	R	R	R	S
P ₁ S ₅ M	R	R	S	S
P ₂ S ₃ S	R	S	S	S
P ₂ S ₄ S	R	S	S	S
P ₂ S ₅ S	R	S	S	R
P ₂ S ₂ M	R	S	S	S
P ₂ S ₄ M	R	R	S	S
P ₂ S ₅ M	R	R	S	S
P ₃ S ₂ S	R	S	R	R
P ₃ S ₃ S	R	R	R	R
P ₃ S ₄ S	S	S	S	R
P ₃ S ₅ S	R	S	S	R
P ₃ S ₂ M	S	S	S	R
P ₃ S ₄ M	S	S	S	S
P ₃ S ₅ M	S	S	S	R
P ₄ S ₁ S	R	R	R	S
P ₄ S ₃ S	R	R	R	S
P ₄ S ₄ S	R	R	R	S
P ₄ S ₅ S	R	R	S	S
P ₄ S ₁ M	R	R	S	S
P ₄ S ₂ M	R	R	S	S
P ₄ S ₃ M	R	R	R	S
P ₄ S ₄ M	R	R	R	S
P ₄ S ₅ M	R	R	R	S
P ₅ S ₁ S	R	R	R	S
P ₅ S ₂ S	R	R	S	S
P ₅ S ₃ S	R	R	R	S
P ₅ S ₄ S	R	R	R	S
P ₅ S ₅ S	R	R	R	S
P ₅ S ₁ M	R	R	R	S

P ₅ S ₂ M	R	R	R	S
P ₅ S ₃ M	R	S	S	S
P ₅ S ₄ M	R	R	S	S
P ₅ S ₅ M	R	R	R	S

L'étude a révélé une forte résistance des souches vis-à-vis de deux antibiotiques sur les quatre testés ; CD₂ (90%), NA₃₀ (70%). Une résistance moyenne à faible a été observée avec les deux autres antibiotiques ; OF₅ (45%), CEP₃₀ (20%),

Tableau12 : Les pourcentages de la résistance pour chaque antibiotique des souches sains et malades des 5 poulaillers.

Sujet	CD ₂		NA ₃₀		OF ₅		CEP ₃₀	
	Sain	Malade	Sain	Malade	Sain	Malade	Sain	Malade
Poulailler01	100%	100%	100%	80%	33,3%	40%	33,3%	0%
Poulailler02	100%	100%	0%	66,6%	0%	0%	33,3%	25%
Poulailler03	75%	0%	25%	0%	50%	0%	100%	66,6%
Poulailler04	100%	100%	100%	100%	0%	0%	0%	0%
Poulailler05	100%	100%	100%	80%	80%	60%	0%	0%

Selon les résultats et les pourcentages de résistances à l'antibiotique Clindamycine (CD₂), il y a une forte résistance des souches des sujets sains et malades des poulaillers 1, 2, 4 et 5 et sujets sains de poulailler 3.

Par contre pour le poulailler 3 on a une sensibilité chez tous les sujets malades. Donc cet antibiotique peut être utilisé pour le traitement des infections d'origine d'*E.coli* seulement pour les sujets malades de poulailler 3.

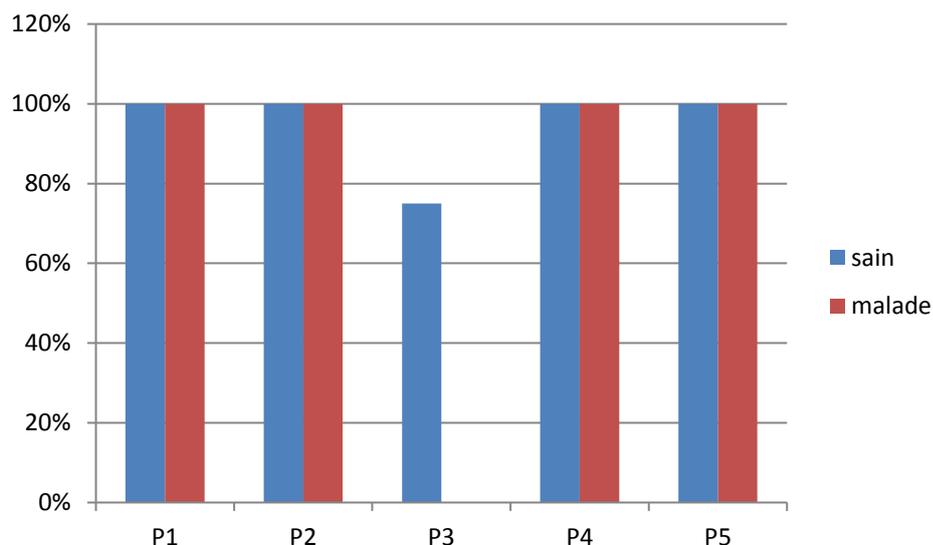


Figure 21 : Le pourcentage de la résistance au CD₂

Les résultats montrent que les sujets sains des poulaillers 1, 4,5 résistent à l'acide Nalidixique et les sujets malades de poulaillers 1, 2,4 et 5 possèdent une remarquable résistance plus de 50%, d'un autre coté les sujet sain de poulailler 3 ont une faible résistance, par contre les sujets sains de poulailler 2 et les sujets malades de poulailler 3 montre une sensibilité à cet antibiotique.

A partir de ces résultats on peut dire que l'acide Nalidixique peut être utilisé comme un traitement pour les sujets malades de poulailler 3 en cas d'une infection d'origine d'*E.coli*.

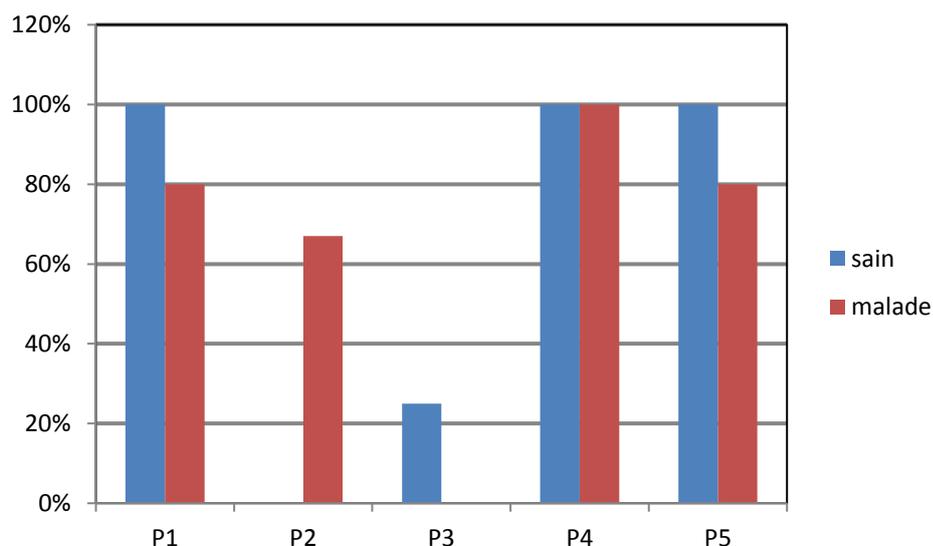


Figure 22 : Le pourcentage de la résistance au NA₃₀

A partir des résultats de l'histogramme l'Ofloxacine (OF₅) ne possède pas un fort effet sur les sujets sains des poulaillers 1, 3, 4 et 5 aussi sur les sujet malades des poulaillers 1, 4 et 5, par contre on a une sensibilité totale des sujets sain et malades de poulailler 2 et des sujets malades de poulailler 3.

Donc cet antibiotique ne sera pas efficace pour traiter les sujets qui représentent une résistance, par contre il est intéressant d'utilisé cet antibiotique pour traiter les infections d'origine d'*E.coli* pour les sujets malades des poulaillers 2 et 3.

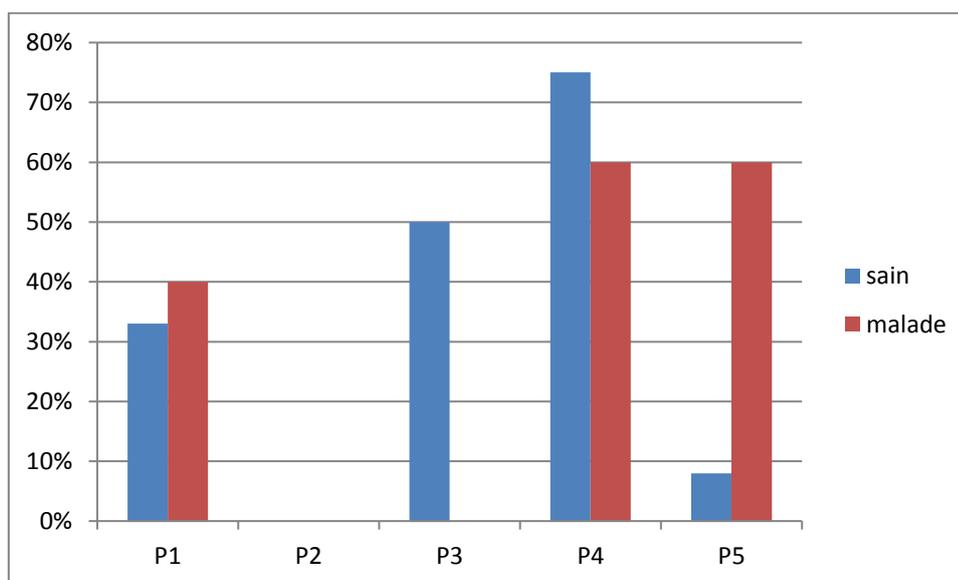


Figure 23 : Le pourcentage de la résistance à l'OF₅

Les résultats montrent que les sujets sains et malades des poulaillers 2 et 3 ont une résistance à l'CEP₃₀ aussi les sujets sain de poulailler 1, par contre les sujets malades et sains des poulaillers 4 et 5 et les sujets malades de poulailler 1 représentent une sensibilité totale à cet antibiotique. Donc CEP₃₀ peut être utilisé pour traiter les infections d'origine d'*E.coli* pour les poulaillers 4 et 5 et les sujets malades de poulailler 1.

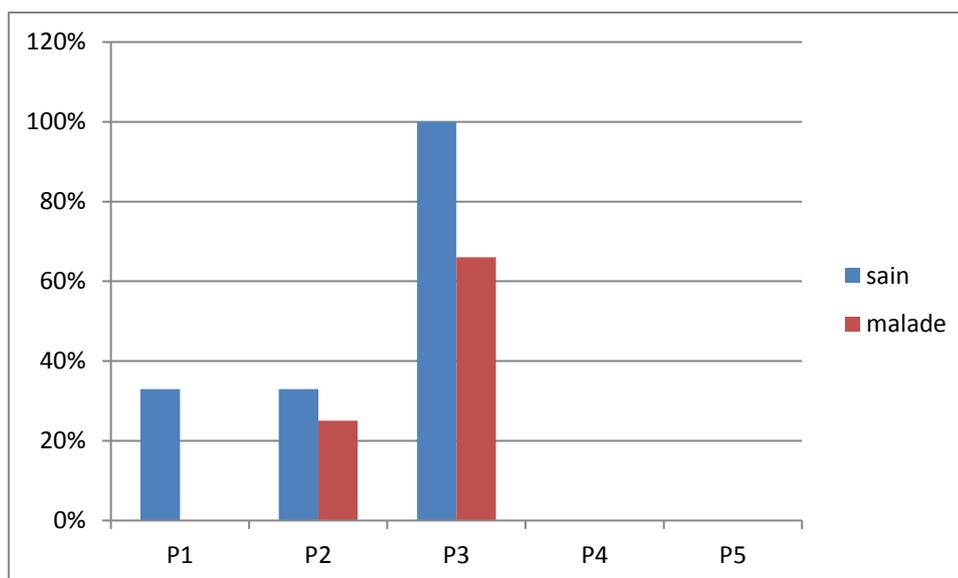


Figure 24 : Le pourcentage de la résistance à CEP₃₀

L'analyse de la résistance des germes d'*Escherichia coli* a montré une très bonne réponse vis-à-vis de la CD₃ (90%) et à le NA₃₀ (70%) par conte une faible résistance pour le OF₅ (45%) et le CEP₃₀ (20%).

A partir des autres études sur l'antibiorésistance de la souche d'*E.coli* **Hammoudi et al., (2009)** ont trouvé une résistance aux tétracyclines (87%), tandis qu'une faible résistance pour la colistine (3%) et l'enrofloxacin (6%) a été observée. Aussi **Fatma et al., (2009)**, ont démontré une résistance aux tétracyclines (80 à 85 %) ; l'amoxiciline (50%) et la fluméquine (44%). **Nadeau et al (2000)**., au Canada ont aussi trouvé une résistance aux tétracyclines.

Autre étude faite au Sénégal par **Chiekh (2010)** a montré que les souches d'*E.coli* étudiées ont une résistance marquée concernant les tétracyclines (98,15%) ; les sulfamides (94,45%) ; le triméthoprim (88,89%) ; l'amoxiciline (75,93%) et l'ampicilline (74,08%).

Cette antibiorésistance explique l'inefficacité thérapeutique des antibiotiques utilisés par les aviculteurs après traitement. Comme raisons pouvant être évoquées, il y a l'utilisation de longue durée de ces molécules comme additif alimentaire ou bien en chimio-prévention mais aussi le non respect des posologies.

D'un autre coté cette antibiorésistance provoque des problèmes sur le poulet de chair en cas d'antibiothérapie et la transmission de cette résistance vers d'autres souches et à l'homme. Donc cette antibiorésistance est alarmante et nécessite un usage régulier des antibiotiques en élevage avicole.

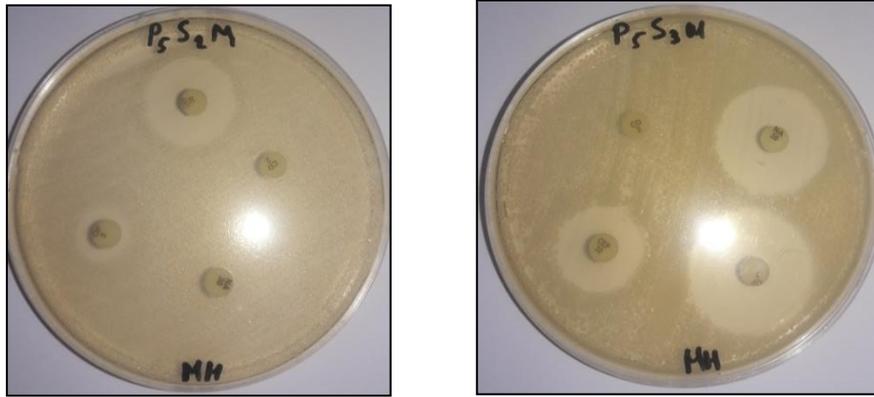


Figure25: Résultats d'antibiogramme

Conclusion

Les colibacilloses aviaires sont des affections d'importance économique pour l'industrie avicole, car elles engendrent des pertes substantielles à cause de la morbidité, la mortalité, et des coûts associés aux traitements. Les moyens de lutte actuels contre ces colibacilloses sont constitués par l'antibiothérapie généralisée et l'application des mesures sanitaires

La résistance aux antibiotiques d'*E. coli* aviaire est d'une importance particulière en Algérie, car il existe un risque élevé de contamination humaine, non contrôlé, des animaux. Pour rentabiliser l'aviculture, il faut un suivi sanitaire attentif, un respect rigoureux de l'hygiène, du temps et des moyens pour s'en occuper correctement.

Sur un total de 50 échantillons analysés, 40 souches d'*Escherichia coli* ont été isolées et leur sensibilité testées vis-à-vis de 4 antibiotiques.

L'antibiogramme standard a révélé une très forte résistance vis à vis de deux antibiotiques sur les quatre. Dans l'ordre d'activité décroissante, le clindamycine est la plus active avec 90% suivie par l'acide nalidixique avec 70%.

La sensibilité est moyenne à fort avec deux antibiotiques qui sont l'ofloxacine avec 55% et le cephalothine avec 80%.

Au vu de ces résultats intéressants et compte tenu des connaissances actuelles sur les colibacilloses aviaires, il nous apparaît de formuler les recommandations suivantes en vers les éleveurs :

- Améliorer leur technicité en matière d'aviculture par des formations,
- Veiller à l'état sanitaire de leurs volailles et signaler tout animal malade aux vétérinaires cliniciens (pas d'automédication),
- Favoriser l'application des bonnes pratiques d'élevage (habitat, alimentation, hygiène, biosécurité, gestion des déchets).
- Ne pas utiliser des antibiotiques de façon abusive et anarchique.

Références bibliographiques

Références bibliographique

A

AFSSA, 2006, Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine, pages : 15-16.

Al Hassane M., 2012. La colibacillose du poulet de chair : Etude anatomo-clinique et circonstances d'apparition dans la zone périurbaine de Dakar. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, Université Cheikh Anta Diop de Dakar Sénégal. 120 pages.

Alanis M.D, Alfonso J., 2005. Resistance to antibiotics: Are in the post-Antibiotic Era? Lilly research laboratories, Eli Lilly and company, Indianapolis, Indiana. Archive of Medical Research. 36, 697-705.

Amara A., Badou M., Faid M., 1994, Antibiorésistance *d'Escherichia coli* isolées des carcasses de poulets fraîchement abattus. Vol. 14 (3) : 25 – 29. Éditions, Rabat.

Amghar M., 2011. Conception et mise en œuvre d'un élevage avicole bio en autonomie alimentaire en zone difficile (Kabylie, Algérie).

B

Bachir Pacha M., 2013, Manuel des pathologies aviaires, office de publications universitaires. Pp80 – 83.

C

Charaf B., 2009. Reproduction expérimentale d'une colibacillose chez le poulet « Comparaison de l'efficacité d'une Fluméquine et d'une Amoxicilline par rapport à une Enrofloxacin de référence dans le traitement de cette pathologie ». Thèse de Doctorat, Université Mentouri Constantine. Pp 171.

Courvalin P., 2007. La résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. Bull. Vét. France — 2008 - Tome 161 - N°1

D

Daurel C., Leclercq R., 2008. L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. Revue Francophone des Laboratoires, ed Elsevier Masson SAS, N°407.

De Vos P., 2009, Bergey's Manual of systematic bacteriology, 2nd edition, Edition SPRINGER, page 607.

G

Guérin J L, Balloy D., Villate D., 2011, Maladies des volailles, 3^{ème} édition, Edition France Agricole. Pages 316-324.

Garba A., 2012, caractérisation phénotypique et génétique des *Escherichia coli* isolés des cas de colibacilloses aviaires au Sénégal, Thèse de Doctorat, Université Cheikh Anta Diop De Dakar

H

Hammoudi A., Mouats A., Halbouche M., 2009. Sérotypes, Antibiorésistance et identification de gènes de virulence des *Escherichia coli* pathogènes dans les élevages avicoles en Algérie. Actes des 1ères JER-GAL Mostaganem, 23-24.

I

Institut pasteur, 2017, la résistance aux antibiotiques, disponible sur <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/resistance-aux-antibiotiques>, consulté le 25/05/2018

N

Ndiaye C., 2010. Etude anatomo-clinique et bactériologique des cas suspects de colibacillose aviaire dans les régions de Dakar et Thies. Thèse de Doctorat en médecine vétérinaire , Université Cheikh Anta Diop de Dakar Sénégal. Pp 29.

Nolan L K., Barnes H J., Abdul-Aziz T A., Logue C M., Vaillancourt J P., 1992, Maladies bactériennes : colibacillose, In Jeanne Brugère-Picoux, Jean-Pierre Vaillancourt, Manuel de pathologie aviaire, Edition , pages 300-313.

S

SFM, 2017. Antibiogramme vétérinaire du Comité de l'antibiogramme.

Stordeur P., Mainil J., 2002. La colibacillose aviaire, formation continue. Faculté de Médecine Vétérinaire. Université de Liège.

Annexes

Annexe I

Questionnaire

Poulet de chair

Date de la visite :

Poulailler N° :

Nombre de bâtiments :

Paramètres			Remarques
Type d'élevage		Traditionnel	
		Moderne	
Mode d'élevage		Au sol/En batterie/Mixte (sol-batterie)	
Bâtiment	Environnement	Ville/Village/Vallée/Colline.	
		Altitude	
	Type de bâtiment	Clair	
		Obscure	
	Eloigné de tous facteurs de stress	Oui/Non	
	Surface (m ²)		
	Aération	Naturelle	
		Ventilation	
		Fréquence	
	Lumière	Naturelle	
		Artificielle	
		Intensité	
	Méthode de chauffage		
	Température (chaque étape)		
	Humidité		
Mangeoire	Nombre		

		Taille	
		Matière	
	Abreuvoir	Nombre	
		Taille	
		Matière	
	Fréquence de nettoyage	Mangeoire Abreuvoir	
	Sol	Béton, gravillon/caillons	
	Mur	Chaulé, parpaing, métal	
	Toit	Matière :	
	Fenêtre	Nombre :	
		Dimension :	
Grillagée : Oui/Non			
Poulet	Date d'arrivé		
	Nombre totale		
	Catégorie d'âge		
	Nombre/catégorie		
	Densité(poulet/m ²)		
	Nombre de cage		
	Nombre/cage		
	Race	Locale	
		Importée	
	Souche		
	Choix de la souche (Caractéristiques)		
	Age d'abattage		
	Poids d'abattage		
	Méthode d'abattage		
	Nbr de bande/an		
Eau	Volume consommé/jour		

	Fréquence de remplissage		
	Distribution régulière	Oui/Non (heure fixe)	
	Analyse microbiologique	Oui/non Fréquence	
Aliment	Type d'aliment	Général	
		Spécifique : Démarrage Croissance Finition	
	Qt distribuée/j		
	Qt consommée/j		
	Fréquence de distribution		
	Période de distribution		
	Distribution régulière	Oui/Non (heure fixe)	
	Ingrédients		
	Sans additifs		
	Avec additifs	Vitamines	
		Antibiotiques (facteur de croissance, médicament)	
		Autres	
	Analyse microbiologique	Oui/non Fréquence	
Hygiène	Sol (litière)	Epaisseur	
		Genre: Sèche /Humide	
		Nature :	
		Fréquence de renouvellement	
		Pulvérisation anti-	

		septique	
	Local	Aération préalable	
		Fumigation	
		Vide sanitaire Fréquence Durée	
		Désinfection Type Fréquence	
		Pédiluve	Oui/ non
		Type	
		Solution	
L'éleveur	Nbr de main d'œuvre		
	Expérience dans le domaine		
	Niveau d'étude		
	Connaissances dans le domaine		
	Formation, amélioration		
	Culture d'hygiène		
	Autres activités		
Soins vétérinaires	Nb sujets malades/bâtiment		
	Mortalité	Taux Causes	
	Elimination de sujets malades	Oui/non	
	Fréquence de contrôle		
	Analyses microbiologiques		

	Maladies	Parasitaire Bactérienne Carence Virale	
	Stress	Fréquence	
		Origine : Bruit, Carence. Autres :	

	Vaccination	Antibiothérapie
Date		
Dose		
Mode d'administration		

La cause de mortalité :

1. Colibacillose :

➤ **Symptômes :**

➤ **Traitement :**

2. Autres causes :

➤ **Symptômes :**

➤ **Traitement**

Annexe II

Composition des milieux de culture utilisés

1. Bouillon nutritif

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone 10,0 g
- Extrait de viande..... 5,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,2 \pm 0,2$.

2. Gélose nutritive

Pour 1 litre de milieu :

- Bouillon nutritif
- Agar agar..... 14 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,3 \pm 0,2$

3. Gélose EMB

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine10,0 g
- Lactose10,0 g
- Phosphate dipotassique.....2,0 g
- Eosine Y.....0,4 g
- Bleu de méthylène65,0 mg
- Agar agar bactériologique.....15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,0 \pm 0,2$.

4. Gélose Mueller Hinton

Pour 1 litre de milieu :

- Hydrolysât acide de caséine17,5 g
- Infusion de viande.....2,0 g
- Amidon soluble1,5 g
- Agar agar bactériologique.....17,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,3 \pm 0,2$.

5. Gélose TSA

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone 15,0 g
- Peptone papainique de soja 5,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- Agar agar bactériologique 15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : $7,3 \pm 0,2$.

6. Gélose mannitol-mobilité

Pour 1L d'eau distillée :

- Peptone20 g
- Mannitol 2 g
- Rouge de phénol 4 ml
- Nitrate de sodium ou de potassium..... 1 g
- Agar à faible dose..... 1 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : $7,6 \pm 0,2$.

7. Gélose citrate de Simmons

Pour 1L d'eauidistillée :

- Sulfate de magnésium.....0.2 g
- Citrate de Na⁺.....2 g
- NaCl..... 5 g
- Hydrogénophosphate d'ammonium.....0.2 g
- Hydrogénophosphate d'ammonium monosodique.....0.8 g
- Bleu de bromothymol..... 0.08 g
- Agar..... 15 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : $7,6 \pm 0,2$.

8. Gélose TSI

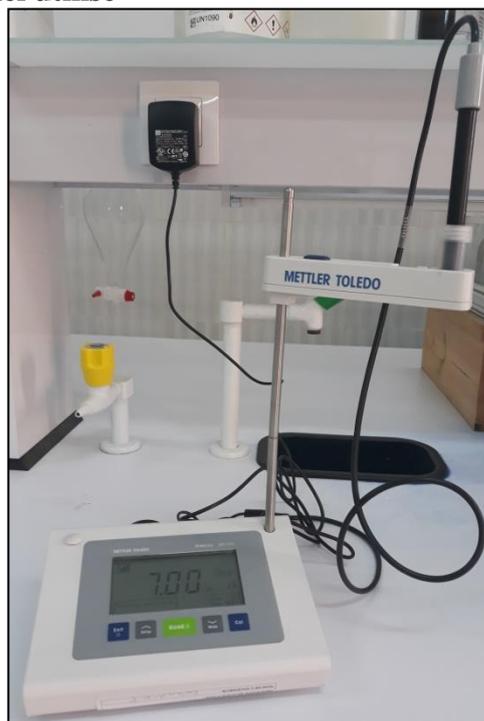
Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....14,0 g
- Extraitautolytique de levure.....3,0 g
- Extrait de viande3,0 g
- Glucose.....1,0 g
- Lactose10,0 g
- Saccharose.....10,0 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Thiosulfate de sodium.....0,3 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....0,3 g
- Rouge de phénol.....24,0 mg
- Agar agar bactériologique.....13,5 g
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,4 \pm 0,2$.

Annexe IV Matériel utilisé



Plaque chauffante agitatrice



pH mètre



Bain- Marie



Balance



Autoclave

Résumé

Les colibacilloses aviaires constituent une préoccupation sanitaire majeure et aux plus fortes répercussions économiques. De plus, elles peuvent porter atteinte à la santé publique. Ainsi, après prélèvement des 50 échantillons des sujets sains et malades à partir des cinq poulaillers de poulet de chair et isolement sur un milieu EMB, ces isolats sont identifiés par des tests biochimiques. L'effet de ces souches sur les globules rouges est testé sur un milieu TSA additionné de 5 ml de sang frais. Un antibiogramme des souches isolées a été réalisé pour étudier leur antibiorésistance avec quatre antibiotiques.

Les résultats d'isolement et d'identification ont montré que 80% des souches sont des souches d'*E.coli*. Le test d'hémolyse indique que les souches n'ont aucun effet sur les globules rouges. L'antibiogramme donne une forte résistance pour la Clindamycine et Acide nalidixique par contre une remarquable sensibilité à Ofloxacine et Cephalotine

Mots clés : colibacillose aviaire, *Escherichia coli*, poulet de chair, antibiorésistance.

Abstract

Avian colibacillosis is a common disease with a great economic impact that can affect public health. Thus, after taking 50 samples from five chicken coops and isolation on EMB medium, these isolates were identified by biochemical tests. The effect of these strains on red blood cells is tested on a TSA medium supplemented with 5 ml of fresh blood. An antibiogram of isolated strains was performed to study their antimicrobial resistance with four antibiotics.

The isolation and identification results showed that 80% of the strains are *E. coli* strains. The hemolysis test indicates that the strains have no effect on red blood cells. The antibiogram showed a strong resistance for Clindamycin and Nalidixic acid by contrast a remarkable sensitivity to Ofloxacin and Cephalothin

Key words: avian colibacillosis, *Escherichia coli*, broiler, antimicrobial resistance